



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119325387 A

(43) 申请公布日 2025. 01. 17

(21) 申请号 202380045504.2

(22) 申请日 2023.04.18

(30) 优先权数据

10-2022-0047662 2022.04.18 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.12.06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2023/005198 2023.04.18

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2023/204556 KO 2023.10.26

(71) 申请人 韩美药品株式会社

地址 韩国京畿道

(72) 发明人 崔宰赫 李珍奉 朴恩珍 李相贤

金尚允 S·H·朴

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

专利代理人 王永伟

(51) Int.Cl.

A61K 38/26 (2006.01)

A61K 47/68 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

C07K 14/605 (2006.01)

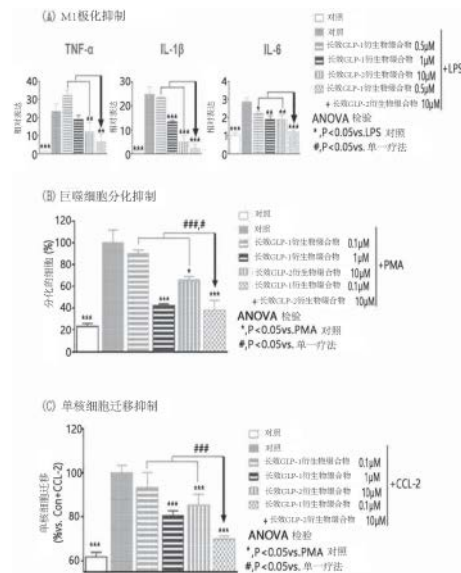
权利要求书3页 说明书29页  
序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

用于预防或治疗肠病的GLP-2与促胰岛素肽、TNF α 抑制剂或两者的组合疗法

(57) 摘要

本公开涉及组合疗法,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF α 抑制剂或两者,用于预防、改善或治疗肠病。



1. 用于预防或治疗肠病的药物组合物,其包括药学有效量的GLP-2,其中所述药物组合物与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。
2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述促胰岛素肽选自胰高血糖素样肽-1 (GLP-1)、毒蜥外泌肽-3、毒蜥外泌肽-4、其用剂、衍生物、片段和变体,及其组合。
3. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述促胰岛素肽是促胰岛素肽衍生物,其中所述促胰岛素肽的N端组氨酸残基被咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸取代。
4. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述促胰岛素肽是天然毒蜥外泌肽-4;毒蜥外泌肽-4的N端第一个氨基酸即组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与所述 $\alpha$ 碳连接的N端氨基被去除的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被去除的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被羟基取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被两个甲基修饰的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被羧基取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的第12个氨基酸(赖氨酸)被丝氨酸取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;或毒蜥外泌肽-4的第12个氨基酸(赖氨酸)被精氨酸取代的毒蜥外泌肽-4衍生物。
5. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述GLP-2是天然GLP-2或GLP-2衍生物。
6. 根据权利要求5所述的药物组合物,其中所述GLP-2衍生物是这样的GLP-2衍生物:其中所述天然GLP-2的序列的至少一个氨基酸中发生了选自取代、添加、缺失、修饰及其组合的修饰。
7. 根据权利要求5所述的药物组合物,其中所述GLP-2衍生物是这样的GLP-2衍生物:其中SEQ ID NO:1的第1、2、30和33位的氨基酸中的至少一个氨基酸中发生了修饰。
8. 根据权利要求5所述的药物组合物,其中所述GLP-2衍生物包括由下列通式1表示的氨基酸序列:

[通式1]

$X_1X_2DGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTX_{30}ITDX_{34}$  (SEQ ID NO:9)

其中,

$X_1$ 是组氨酸、咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸;

$X_2$ 是丙氨酸、甘氨酸或2-氨基异丁酸(Aib);

$X_{30}$ 是赖氨酸或精氨酸;并且

$X_{34}$ 不存在,或是赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、6-叠氮基赖氨酸或半胱氨酸;

前提是在通式1的氨基酸序列当中,排除与SEQ ID NO:1相同的序列。

9. 根据权利要求8所述的药物组合物,其中所述GLP-2衍生物包括由通式1表示的氨基酸序列,其中:

(1)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是半胱氨酸;

(2)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是赖氨酸;

(3)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是精氨酸,并且 $X_{34}$ 是赖氨酸;

(4)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是6-叠氮基赖氨酸;

(5)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是精氨酸,并且 $X_{34}$ 是半胱氨酸;

(6)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是Aib, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是半胱氨酸;或

(7)  $X_1$ 是组氨酸,  $X_2$ 是Aib,  $X_{30}$ 是赖氨酸, 并且 $X_{34}$ 是半胱氨酸。

10. 根据权利要求5所述的药物组合物, 其中所述GLP-2衍生物包括由下列通式2表示的氨基酸序列;

[通式2]

$X_1X_2DGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTX_{30}ITDX_{34}$  (SEQ ID NO:10)

其中,

$X_1$ 是组氨酸、咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸;

$X_2$ 是丙氨酸、甘氨酸或2-氨基异丁酸 (Aib);

$X_{30}$ 是赖氨酸或精氨酸; 并且

$X_{34}$ 是任一个或多个氨基酸或其中发生了修饰的任一个或多个氨基酸;

前提是在通式2的氨基酸序列当中, 排除与SEQ ID NO:1相同的序列。

11. 根据权利要求5所述的药物组合物, 其中所述GLP-2衍生物是选自SEQ ID NO:2至8的氨基酸序列的肽。

12. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中GLP-2与促胰岛素肽组合施用。

13. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中GLP-2与TNF $\alpha$ 抑制剂组合施用。

14. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中GLP-2与促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂组合施用。

15. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中所述TNF $\alpha$ 抑制剂是可溶性TNF受体、抗TNF $\alpha$ 抑制剂或其片段, 或其组合。

16. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中所述肠病是选自应激性肠病、肠炎、炎症性肠病、小肠结肠炎、结肠炎、胰腺炎、回肠炎、肠萎缩和肠损伤中的至少一种。

17. 根据权利要求16所述的药物组合物, 其中所述炎症性肠病是选自溃疡性结肠炎、克罗恩病和贝切特病中的至少一种。

18. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中所述组合物在被施用于对象时引起对单核细胞中M1极化的抑制、对巨噬细胞分化的抑制和对单核细胞迁移的抑制当中的至少一项。

19. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中所述组合物在被施用于对象时引起小肠的长度增加、小肠的炎症减少、大肠的长度增加和大肠的炎症减少当中的至少一项。

20. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中在所述促胰岛素肽和GLP-2中, 所述C端未被修饰或是被酰胺化。

21. 根据权利要求1所述的药物组合物, 其中:

(i) 所述促胰岛素肽是长效缀合物的形式, 能够增加所述促胰岛素肽的体内半衰期的生物相容性物质与所述长效缀合物结合;

(ii) 所述GLP-2是长效缀合物的形式, 能够增加所述GLP-2的体内半衰期的生物相容性物质与所述长效缀合物结合; 或

(iii) 所述促胰岛素肽和GLP-2各自是长效缀合物的形式, 能够分别增加所述促胰岛素肽和GLP-2的体内半衰期的生物相容性物质与所述长效缀合物结合。

22. 根据权利要求21所述的药物组合物, 其中所述缀合物由下式1表示:

[式1]

X-La-F

其中,

X是促胰岛素肽或GLP-2;

L是含有乙二醇重复单元的连接体;

a是0或自然数,其中当a是2或更大时,每个L彼此独立;

F是免疫球蛋白Fc区;并且

“-”代表共价键。

23. 根据权利要求22所述的药物组合物,其中所述免疫球蛋白Fc区是非糖基化IgG4 Fc区。

24. 根据权利要求22所述的药物组合物,其中所述F是由两条多肽链构成的二聚体,并且L的一端仅与所述两条多肽链中的一条连接。

25. 根据权利要求22所述的药物组合物,其中所述L是聚乙二醇。

26. 根据权利要求22所述的药物组合物,其中L中乙二醇重复单元部分的式量在1kDa至100kDa的范围内。

27. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述组合物还包括药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。

28. 根据权利要求1至27中任一项所述的药物组合物,其中(i) GLP-2和促胰岛素肽; (ii) GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂;或(iii) GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂同时、相继或以逆序组合施用。

## 用于预防或治疗肠病的GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合疗法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于预防或治疗肠病的组合疗法,其通过将胰高血糖素样肽2 (GLP-2) 与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用实现。

### 背景技术

[0002] 肠病包括应激性肠病、肠炎、炎症性肠病、小肠结肠炎、结肠炎、胰腺炎、回肠炎、肠萎缩、肠损害等。其中炎症性肠病 (IBD) 是以胃肠道中的炎症或溃疡为特征的炎性疾病,并且可表现出诸如炎性细胞因子的表达增加、体重减轻、结肠长度缩短、腹痛、发热、腹泻和/或便血的症状。这些症状会反复恶化和改善。

[0003] 胰高血糖素样肽1 (GLP-1), 作为一类促胰岛素肽, 是回肠和结肠中由L细胞分泌的肠促胰岛素激素。GLP-1的主要作用是增加胰岛素分泌。其引起葡萄糖依赖性胰岛素分泌, 从而预防低血糖。由于这一特点, GLP-1作为二型糖尿病疗法来应用; 然而, 由于其在血液中的半衰期非常短 (约2分钟), 因此其对药物开发有明显的限制。因此, 开发并上市的示例性 GLP-1激动剂是毒蜥外泌肽-4, 它是一种从吉拉毒蜥 (glia monster lizard) 的唾液中纯化出来的GLP-1类似物。它具有比GLP-1更高的生理活性以及对二肽基肽酶-4 (DPP-IV) 的抗性, 与GLP-1相比, 半衰期更长, 为2至4小时 (US 5,424,286 A)。然而, 无法只通过增加对DPP-IV的抗性来预期足够的生理活性持续时间。例如, 目前市场上可获得的毒蜥外泌肽-4 (艾塞那肽, exenatide) 仍然需要通过注射每天两次对患者施用, 并且其施用引起的呕吐和恶心等副作用仍然是患者的重大负担。

[0004] GLP-2是一种由33个氨基酸构成的肽激素, 由小肠中的L细胞响应于所消化的营养物质产生。GLP-2引发小肠和大肠的粘膜生长、促进肠细胞和隐窝细胞的生长以及抑制细胞凋亡。此外, GLP-2还会增加小肠中营养物的吸收并降低肠渗透性。其抑制胃排空和胃酸分泌、增加肠血液流动以及放松肠平滑肌。

[0005] TNF $\alpha$ 是一种在免疫反应中起核心作用的细胞因子, 并且也与炎症反应有关。已知对TNF $\alpha$ 的异常调节会发生在各种疾病中。为了抑制由TNF $\alpha$ 引起的此类反应, 已经开发出各种TNF $\alpha$ 抑制剂。

### 发明内容

[0006] **【技术问题】**

[0007] 迄今为止, 使用促胰岛素肽、GLP-2和/或TNF $\alpha$ 抑制剂开发肠病治疗剂仍然不足。因此, 存在对长效疗法的开发需求。

[0008] **【技术方案】**

[0009] 本发明的一个目的是提供通过将GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合来预防、改善或治疗肠病的疗法。

[0010] 本发明的另一个目的是提供用于预防或治疗肠病的药物组合物, 其包括GLP-2, 其

中所述药物组合物的特征在于与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。

[0011] 本发明的又一个目的是提供组合,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。

[0012] 本发明的又一个目的是提供用于预防、改善或治疗肠病的药物组合物,其包括所述组合。

[0013] 本发明的又一个目的是提供用于预防、改善或治疗肠病的药物套组(kit),其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。

[0014] 本发明的又一个目的是提供用于预防、改善或治疗肠病的方法,其包括对有需要的个体施用和/或使用所述组合、药物组合物或药物套组。

[0015] 本发明的又一个目的是提供用于预防、改善或治疗肠病的方法,其包括对有需要的个体与含有药学有效量的促胰岛素肽的组合物、含有药学有效量的TNF $\alpha$ 抑制剂的组合物或两者组合施用和/或使用含有药学有效量的GLP-2的组合物。

[0016] 本发明的又一个目的是提供所述组合、药物组合物或药物套组用于预防、改善或治疗肠病的用途;和/或所述组合、药物组合物或药物套组在制备用于预防、改善或治疗肠病的药物中的用途。

[0017] **【有利效果】**

[0018] 与单一疗法相比,本发明的包括GLP-2以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合疗法提供增强的效果并且能够有效地用于预防、改善或治疗肠病。

## 附图说明

[0019] 图1显示了证实GLP-2(长效GLP-2衍生物缀合物)与促胰岛素肽(长效GLP-1衍生物缀合物)的组合施用对M1极化(A)、巨噬细胞分化(B)和单核细胞迁移(C)的抑制作用的结果。

[0020] 图2显示了GLP-2(长效GLP-2衍生物缀合物)与促胰岛素肽(长效GLP-1衍生物缀合物)、TNF $\alpha$ 抑制剂(抗TNF $\alpha$ 抗体)或两者组合施用后吲哚美辛(indomethacin)(INN)诱导的炎症性肠病大鼠模型中小肠长度的变化。

[0021] 图3示出了GLP-2(长效GLP-2衍生物缀合物)与促胰岛素肽(长效GLP-1衍生物缀合物)、TNF $\alpha$ 抑制剂(抗TNF $\alpha$ 抗体)或两者组合施用后吲哚美辛诱导的炎症性肠病大鼠模型中溃疡面积的变化。

[0022] 图4显示了GLP-2(长效GLP-2衍生物缀合物)与促胰岛素肽(长效GLP-1衍生物缀合物)组合施用后葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型中结肠长度的变化。

[0023] 图5示出了GLP-2(长效GLP-2衍生物缀合物)与促胰岛素肽(长效GLP-1衍生物缀合物)组合施用后DSS诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型中的疾病活动指数(DAI)。

[0024] 优选实施方式描述

[0025] 本发明的一个方面提供通过将GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合来预防、改善或治疗肠病的疗法。

[0026] 本发明的一个方面提供用于预防、改善或治疗肠病的组合物,其包括GLP-2,其中GLP-2的特征在于与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。

[0027] 在一个实施方式中,本发明提供用于预防、改善或治疗肠病的药物组合物,其包括

药有效量的GLP-2,其中药物组合物的特征在于与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。

[0028] 在另一个实施方式中,本发明提供用于预防或改善肠病的食品组合物,其包括GLP-2,其中食品组合物的特征在于与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。

[0029] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,促胰岛素肽选自胰高血糖素样肽-1 (GLP-1)、毒蜥外泌肽-3、毒蜥外泌肽-4、其用剂(agent)、衍生物、片段和变体,及其组合。

[0030] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,促胰岛素肽是促胰岛素肽衍生物,其中促胰岛素肽的N端组氨酸残基被咪唑并乙酰基去组氨酸(dehistidine)、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸取代。

[0031] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,其中促胰岛素肽是天然毒蜥外泌肽-4;毒蜥外泌肽-4的N端第一个氨基酸即组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与 $\alpha$ 碳连接的N端氨基被去除的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被去除的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被羟基取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被两个甲基修饰的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的N端氨基被羧基取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;毒蜥外泌肽-4的第12个氨基酸(赖氨酸)被丝氨酸取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;或毒蜥外泌肽-4的第12个氨基酸(赖氨酸)被精氨酸取代的毒蜥外泌肽-4衍生物。

[0032] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,GLP-2是天然GLP-2或GLP-2衍生物。

[0033] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,GLP-2衍生物是这样的GLP-2衍生物:其中天然GLP-2的序列的至少一个氨基酸中发生了选自取代、添加、缺失、化学修饰及其组合的修饰。

[0034] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,GLP-2衍生物是这样的GLP-2衍生物:其中SEQ ID NO:1的第1、2、30和33位的氨基酸中的至少一个氨基酸中发生了修饰。

[0035] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,GLP-2衍生物包括由下列通式1表示的氨基酸序列:

[0036] [通式1]

[0037]  $X_1X_2DGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTX_{30}ITDX_{34}$  (SEQ ID NO:9)

[0038]  $X_1$ 是组氨酸、咪唑并乙酰基去组氨酸(deshitidine)、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸;

[0039]  $X_2$ 是丙氨酸、甘氨酸或2-氨基异丁酸(Aib);

[0040]  $X_{30}$ 是赖氨酸或精氨酸;并且

[0041]  $X_{34}$ 不存在,或是赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、6-叠氮基赖氨酸或半胱氨酸;

[0042] 前提是在通式1的氨基酸序列当中,排除与SEQ ID NO:1相同的序列。

[0043] 在根据前述实施方式中任一个的组合物中,GLP-2衍生物包括由通式1表示的氨基酸序列,其中:

[0044] (1)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是半胱氨酸;

[0045] (2)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是赖氨酸;

[0046] (3)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是精氨酸,并且 $X_{34}$ 是赖氨酸;

[0047] (4)  $X_1$ 是咪唑并乙酰基去组氨酸, $X_2$ 是甘氨酸, $X_{30}$ 是赖氨酸,并且 $X_{34}$ 是6-叠氮基赖氨酸;

- [0048] (5)  $X_1$  是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$  是甘氨酸,  $X_{30}$  是精氨酸, 并且  $X_{34}$  是半胱氨酸;
- [0049] (6)  $X_1$  是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$  是 Aib,  $X_{30}$  是赖氨酸, 并且  $X_{34}$  是半胱氨酸; 或
- [0050] (7)  $X_1$  是组氨酸,  $X_2$  是 Aib,  $X_{30}$  是赖氨酸, 并且  $X_{34}$  是半胱氨酸。
- [0051] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, GLP-2 衍生物包括由下列通式 2 表示的氨基酸序列;
- [0052] [通式 2]
- [0053]  $X_1X_2DGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTX_{30}ITDX_{34}$  (SEQ ID NO: 10)
- [0054] 其中,
- [0055]  $X_1$  是组氨酸、咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或  $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸;
- [0056]  $X_2$  是丙氨酸、甘氨酸或 2-氨基异丁酸 (Aib);
- [0057]  $X_{30}$  是赖氨酸或精氨酸; 并且
- [0058]  $X_{34}$  是任一个或多个氨基酸或其中发生了修饰的任一个或多个氨基酸;
- [0059] 前提是在通式 2 的氨基酸序列当中, 排除与 SEQ ID NO: 1 相同的序列。
- [0060] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, GLP-2 衍生物是选自 SEQ ID NO: 2 至 8 的氨基酸序列的肽。
- [0061] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, GLP-2 与促胰岛素肽组合施用。
- [0062] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, GLP-2 与 TNF $\alpha$  抑制剂组合施用。
- [0063] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, GLP-2 与促胰岛素肽和 TNF $\alpha$  抑制剂两者组合施用。
- [0064] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, TNF $\alpha$  抑制剂是可溶性 TNF 受体、抗 TNF $\alpha$  抑制剂或其片段, 或其组合。
- [0065] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, 肠病是选自应激性肠病、肠炎、炎症性肠病、小肠结肠炎、结肠炎、胰腺炎、回肠炎、肠萎缩和肠损伤中的至少一种。
- [0066] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, 炎症性肠病是选自溃疡性结肠炎、克罗恩病和贝切特病中的至少一种。
- [0067] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, 组合物在被施用于对象时引起对单核细胞中 M1 极化的抑制、对巨噬细胞分化的抑制和对单核细胞迁移的抑制当中的至少一项。
- [0068] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, 组合物在被施用于对象时引起小肠的长度增加、小肠的炎症减少、大肠的长度增加和大肠的炎症减少当中的至少一项。
- [0069] 在根据前述实施方式中任一个的组合中, 在促胰岛素肽和 GLP-2 中, C 端未被修饰或是被酰胺化。
- [0070] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,
- [0071] (i) 促胰岛素肽是长效缀合物的形式, 能够增加促胰岛素肽的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合;
- [0072] (ii) GLP-2 是长效缀合物的形式, 能够增加 GLP-2 的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合; 或
- [0073] (iii) 促胰岛素肽和 GLP-2 各自是长效缀合物的形式, 能够分别增加促胰岛素肽和 GLP-2 的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合。

- [0074] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,缀合物由下式1表示:
- [0075] [式1]
- [0076] X-La-F
- [0077] 其中,
- [0078] X是促胰岛素肽或GLP-2;
- [0079] L是含有乙二醇重复单元的连接体;
- [0080] a是0或自然数,其中当a是2或更大时,每个L彼此独立;
- [0081] F是免疫球蛋白Fc区;并且
- [0082] “-”代表共价键。
- [0083] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,免疫球蛋白Fc区是非糖基化IgG4 Fc区。
- [0084] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,F是由两条多肽链构成的二聚体,并且L的一端仅与两条多肽链中的一条连接。
- [0085] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,L是聚乙二醇。
- [0086] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,L中乙二醇重复单元部分的式量在1kDa至100kDa的范围内。
- [0087] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,组合还包括药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。
- [0088] 在根据前述实施方式中任一个的组合中,(i)GLP-2和促胰岛素肽;(ii)GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂;或(iii)GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂同时、相继或以逆序组合施用。
- [0089] 本发明的又一方面提供组合,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。
- [0090] 本发明的又一方面提供用于预防、改善或治疗肠病的药物组合,其包括组合。
- [0091] 本发明的又一方面提供用于预防、改善或治疗肠病的药物套组,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。
- [0092] 本发明的又一方面提供用于预防、改善或治疗肠病的方法,其包括对有需要的个体施用和/或使用组合、药物组合或药物套组。
- [0093] 本发明的又一方面用于预防、改善或治疗肠病的方法,其包括对有需要的个体与含有药学有效量的促胰岛素肽的组合、含有药学有效量的TNF $\alpha$ 抑制剂的组合或两者组合施用和/或使用含有药学有效量的GLP-2的组合。
- [0094] 本发明的又一方面提供组合、药物组合或药物套组用于预防、改善或治疗肠病的用途;和/或组合、药物组合或药物套组在制备用于预防、改善或治疗肠病的药物中的用途。

### 具体实施方式

- [0095] 在下文中,将更详细地描述本发明。
- [0096] 同时,本文公开的描述和实施方式也可分别适用于其它描述和其它实施方式。换言之,本文公开的各种要素的所有组合都落入本发明的范围内。此外,不能认为本发明的范围受到以下具体描述的限制。
- [0097] 此外,本领域技术人员还将认识到或能够使用不超过常规实验就能确定本申请中

描述的本发明具体方面的多种等效物。此外,此类等效物旨在包含在本发明中。

[0098] 在整个说明书中,使用了天然存在的氨基酸的常规的单字母和三字母代码,以及还使用了其它氨基酸如 $\alpha$ -氨基异丁酸(Aib)和6-叠氮基赖氨酸(AZK)通常所接受的三字母代码。此外,本文中的缩写所指的氨基酸是根据IUPAC-IUB命名法描述的。

[0099] 丙氨酸(Ala,A)	精氨酸(Arg,R)
[0100] 天冬酰胺(Asn,N)	天冬氨酸(Asp,D)
[0101] 半胱氨酸(Cys,C)	谷氨酸(Glu,E)
[0102] 谷氨酰胺(Gln,Q)	甘氨酸(Gly,G)
[0103] 组氨酸(His,H)	异亮氨酸(Ile,I)
[0104] 亮氨酸(Leu,L)	赖氨酸(Lys,K)
[0105] 甲硫氨酸(Met,M)	苯丙氨酸(Phe,F)
[0106] 脯氨酸(Pro,P)	丝氨酸(Ser,S)
[0107] 苏氨酸(Thr,T)	色氨酸(Trp,W)
[0108] 酪氨酸(Tyr,Y)	缬氨酸(Val,V)

[0109] 体现本发明的一个方面提供用于预防或治疗肠病的药物组合物,其包括GLP-2,其中药物组合物的特征在于与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。

[0110] 在本发明的一个实施方式中,药物组合物可以是用于预防或治疗肠病的药物组合物,其包括药学有效量的GLP-2,其中药物组合物的特征在于与促胰岛素肽(如药学有效量的促胰岛素肽)、TNF $\alpha$ 抑制剂(如药学有效量的TNF $\alpha$ 抑制剂)或两者组合施用,但不限于此。

[0111] 本发明的另一方面提供GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合在预防、改善或治疗肠病中的用途。

[0112] 另一个实施方式提供用于预防、改善或治疗肠病的药物组合物,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。

[0113] 具体地,本发明的一个方面提供组合、药物组合物或药物套组,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。一个实施方式提供组合、药物组合物或药物套组,其用于预防、改善或治疗肠病。

[0114] 如本文所用,术语“组合”是指使用GLP-2以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者以供组合施用,并且可理解为与“组合式使用”含义相同。这也包括药物组合物和药物套组的形式,其中GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合使用,但不限于此。

[0115] 具体地,(i)GLP-2和促胰岛素肽;(ii)GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂;或(iii)GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂可同时、相继或以逆序组合施用。

[0116] 组合可以是:

[0117] i) GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者,作为混合物或在单独的制剂中被施用的组合;

[0118] ii) 将包括GLP-2的药物组合物与包括促胰岛素肽的药物组合物、包括TNF $\alpha$ 抑制剂的药物组合物或两者组合同时、相继或以逆序施用的组合;或

[0119] iii) 以混合物或单独制剂的形式将包括选自GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂的两种物质的药物组合物与其余物质同时、相继或以逆序组合施用的组合,但不限于此。

[0120] 组合或组合物可以是:

[0121] a) (i) 施用作为混合物的GLP-2和促胰岛素肽, (ii) 施用作为混合物的GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂, 或 (iii) 施用作为混合物的GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂;

[0122] b) 施用单独制剂中的GLP-2和促胰岛素肽, (ii) 施用单独制剂中的GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂, 或 (iii) 施用单独制剂中的GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂; 或

[0123] c) 施用作为混合物的GLP-2和促胰岛素肽以及单独形式的TNF $\alpha$ 抑制剂, (ii) 施用作为混合物的GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂以及单独形式的促胰岛素肽, 或 (iii) 施用作为混合物的促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂以及单独形式的GLP-2, 但不限于此。

[0124] 在其如上文b) 中处于单独制剂中的情况下, (i) GLP-2和促胰岛素肽; (ii) GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂; 或 (iii) GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂可一起各自配制处于单独制剂中或配制成单独制剂, 并且这些配制物可同时、单独、相继或以逆序施用。

[0125] 此外, 在其如上文c) 中处于单独制剂中的情况下, 混合物, 以及促胰岛素肽、GLP-2或TNF $\alpha$ 抑制剂可一起各自配制处于单独制剂中或配制成单独制剂, 并且这些制剂可同时、单独、相继或以逆序施用。

[0126] 如本文所用, 术语“组合式施用”、“被组合施用”或“组合施用”不仅意为同时施用, 而且应理解为其中GLP-2以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者一起作用于对象使得每种物质(促胰岛素肽、GLP-2和/或TNF $\alpha$ 抑制剂) 都能够在于等于或高于其原始功能的水平上发挥功能的施用形式。因此, 当在本文中使用术语“组合使用”时, 这应理解为组合使用是指同时、单独、相继或逆序施用, 并且顺序不作限制。当施用是相继施用、逆序施用或单独施用时, 施用顺序没有特别限制, 但是第二成分或后续成分的施用间隔应当使得组合的有益效果不丧失。

[0127] 如本文所用, 术语“包括组合的组合物”可以是含有GLP-2以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合, 也可包括该组合并且具有治疗用途, 但不限于此。例如, 组合物可用于预防、改善或治疗肠病, 但不限于此。如本文所用, 术语“包括组合的组合物”可与“组合物”互换使用。

[0128] 包括根据本发明的组合的组合物用于GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用, 并且GLP-2以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者可制备成单一制剂, 也可制备成两种或更多种单独制剂。具体地, 组合物可以是GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者同时、单独、相继或以逆序施用的组合物, 但施用不限于此。

[0129] 如本文所用, 术语“套组”可包括根据本发明的组合或组合物, 以便组合施用GLP-2与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。具体地, 根据本发明的套组可包括a) (i) GLP-2和促胰岛素肽, (ii) GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂, 或 (iii) GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂, 配制成单一制剂; b) (i) GLP-2和促胰岛素肽的单独制剂, (ii) GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂的单独制剂, 或 (iii) GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂的单独制剂; 或c) (i) GLP-2和促胰岛素肽的单一制剂以及TNF $\alpha$ 抑制剂的单独制剂, (ii) GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂的单一制剂以及促胰岛素肽的单独制剂, 或 (iii) 促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂的单一制剂以及GLP-2的单独制剂, 并且可进一步包括两种或更多种物质组合式施用所需的物质, 但组分不限于此。

[0130] 本发明证实了, 与单用促胰岛素肽、GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂时相比, 在组合使用GLP以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者时, 预防、改善或治疗肠病的效果显著增强, 并因此提供使用组合疗法的方法。

[0131] “促胰岛素肽”是指具有胰岛素分泌功能的肽,并且能够刺激胰腺 $\beta$ 细胞中胰岛素的合成或表达。促胰岛素肽可以是例如胰高血糖素样肽-1 (GLP-1)、毒蜥外泌肽-3或毒蜥外泌肽-4,但不限于此。促胰岛素肽不仅包括天然促胰岛素肽,还包括其前体、激动剂、衍生物、片段和变体,并且还包含能够增加其体内半衰期的生物相容性物质所结合的长效缀合物。促胰岛素肽可以以药学有效量包含在药物组合物中。

[0132] GLP-1是小肠分泌的激素并且通常促进胰岛素生物合成和分泌,抑制胰高血糖素分泌,并促进细胞内葡萄糖摄取。在小肠中,胰高血糖素前体被分解成三种肽:胰高血糖素、GLP-1和GLP-2。这里,GLP-1意为GLP-1 (1-37),其为不具有胰岛素分泌功能的形式,并且被加工成GLP-1 (7-37)形式以成为活性GLP-1 (7-37)。GLP-1 (7-37)的氨基酸序列如下。

[0133] GLP-1 (7-37) :

[0134] HAEGT FTSDV SSYLE GQAAK EFIAW LVKGR G (SEQ ID NO:32)

[0135] 毒蜥外泌肽-3和毒蜥外泌肽-4是GLP-1类似物或衍生物,由39个氨基酸组成,与GLP-1具有53%的氨基酸序列相似性,并且对应于促胰岛素肽。毒蜥外泌肽-3和毒蜥外泌肽-4的氨基酸序列如下。

[0136] 毒蜥外泌肽-3:

[0137] HSDGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGGPSSGAPPPS (SEQ ID NO:33)

[0138] 毒蜥外泌肽-4:

[0139] HEGT FTSDL SKQME EEAVR LFIEW LKNGGPSSGA PPS (SEQ ID NO:34)

[0140] 促胰岛素肽衍生物可具有胰岛素分泌功能,并且在氨基酸序列中与天然促胰岛素肽具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%或更高的同源性或同一性,和/或可以是促胰岛素肽的某些氨基酸残基基团可被化学取代(例如, $\alpha$ -甲基化和 $\alpha$ -羟基化)、去除(例如,脱氨基)或修饰(例如,N-甲基化)的形式,但不限于此。

[0141] 在一个具体实施方式中,本发明的促胰岛素肽衍生物可通过去除N端组氨酸的 $\alpha$ 氨基的方法、用羟基或羧基取代N端氨基并进行合成的方法、去除N端组氨酸的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基以仅留下咪唑并-乙酰基官能团的方法、用两个甲基修饰N端氨基的方法等制备。通过这些方法制备的促胰岛素肽衍生物可以是促胰岛素肽的N端组氨酸残基被咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸取代的促胰岛素肽衍生物。

[0142] 在一个实施方式中,促胰岛素肽衍生物可以是GLP-1衍生物,并且GLP-1衍生物包括毒蜥外泌肽-3、毒蜥外泌肽-4或其衍生物,但不限于此。

[0143] 此外,促胰岛素肽衍生物的示例可以通过化学修饰毒蜥外泌肽-4的N端氨基或氨基酸残基而获得的衍生物,并且可以是毒蜥外泌肽-4的第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基-去组氨酰-毒蜥外泌肽-4 (CA-毒蜥外泌肽-4);毒蜥外泌肽-4的N端氨基被去除的去氨基组氨酰毒蜥外泌肽-4 (DA-毒蜥外泌肽-4);毒蜥外泌肽-4的N端氨基被羟基取代的 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基组氨酰-4 (HY-毒蜥外泌肽-4);毒蜥外泌肽-4的N端氨基被两个甲基修饰的N-二甲基组氨酰毒蜥外泌肽-4 (DM-毒蜥外泌肽-4);或毒蜥外泌肽-4的N端氨基被羧基取代的 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基-去组氨酰毒蜥外泌肽-4 (CX-毒蜥外泌肽-4);毒蜥外泌肽-4的第十二个氨基酸(赖氨酸)被丝氨酸取代的毒蜥外泌肽-4衍生物;或毒蜥外泌肽-4的第十二个氨基酸(赖氨酸)被精氨酸取代的毒蜥外泌

肽-4衍生物,但不限于此。

[0144] 促胰岛素肽片段是指从天然促胰岛素肽的N端或C端去除和/或添加一个或多个氨基酸的形式,而所添加的氨基酸也可以是自然界中不存在的氨基酸(例如,D型氨基酸)。

[0145] 促胰岛素肽变体是指与天然促胰岛素肽在一个或多个氨基酸上不同,展现出与天然促胰岛素肽至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%或更高的同源性或同一性,并且具有胰岛素分泌功能的肽。

[0146] 促胰岛素肽激动剂是指通过与促胰岛素肽的体内受体——与促胰岛素肽的结构无关——结合而展现出与促胰岛素肽相同的生物活性的物质。

[0147] 用于本发明的衍生物、片段、变体和激动剂的制备方法可分别独立地使用或以组合方式使用。例如,其中一个或多个氨基酸不同并且N端氨基酸残基发生脱氨基的促胰岛素肽也被包括在本发明中。

[0148] 如本文所用,术语“胰高血糖素样肽-2”或“GLP-2”是胰高血糖素样肽-2受体的激动剂,并且可以是多肽的形式或缀合了能够增加多肽的体内半衰期的生物相容性物质的长效缀合物的形式,但不限于此。

[0149] 在本发明中,胰高血糖素样肽-2或GLP-2是这样的概念:不仅包括与天然人GLP-2相同的序列,还包括GLP-2衍生物以及生物相容性物质与天然GLP-2或GLP-2衍生物结合的长效缀合物。GLP-2可以以药学有效量包含在组合物中或单独的组合物中,以便与包括促胰岛素肽的药物组合物组合施用或使用。

[0150] 天然GLP-2的氨基酸序列如下。

[0151] GLP-2(1-33):

[0152] HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD (SEQ ID NO:1)

[0153] 如本文所用,术语“GLP-2受体的激动剂”是指与体内或分离的人胰高血糖素样肽-2受体结合以展现出与天然GLP-2等同或相似的生理活性的物质。例如,GLP-2激动剂可包括天然GLP-2或GLP-2衍生物。

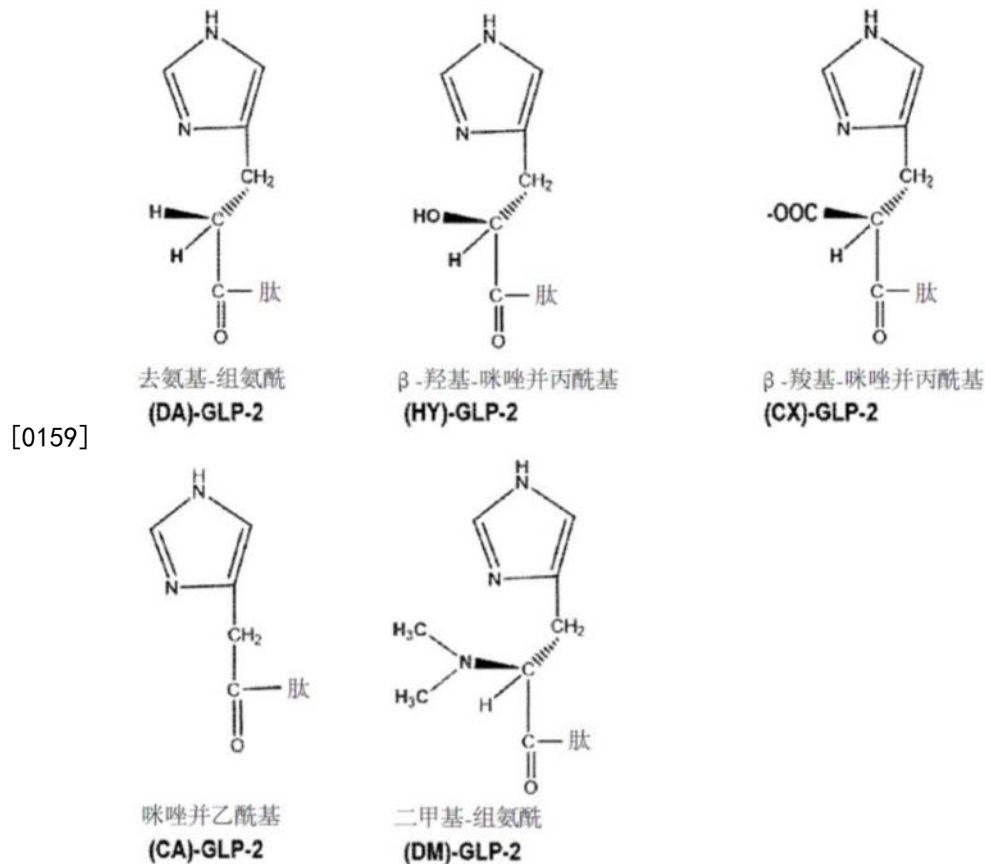
[0154] 如本文所用,术语“GLP-2衍生物”包括与天然GLP-2相比具有一个或多个氨基酸序列差异的肽;通过对天然GLP-2序列修饰而被修饰的肽;和/或天然GLP-2的模拟物,其与天然GLP-2类似,具有预防、治疗和/或改善肠病的功能。具体地,GLP-2衍生物可以是天然GLP-2序列中的至少一个或多个氨基酸经历选自取代、添加、缺失、修饰及其组合的修饰的衍生物,但不限于此。

[0155] 添加的氨基酸也可以是非天然氨基酸(例如,D型氨基酸),并且除了天然氨基酸之外,用非天然氨基酸取代也是可能的。添加的氨基酸序列可衍生自天然GLP-2,但不限于此。此外,在本发明中,氨基酸的修饰还可意为氨基酸残基的某些基团被化学取代(例如, $\alpha$ -甲基化、 $\alpha$ -羟基化和用叠氮基取代)、去除(例如,脱氨基)和/或修饰(例如,N-甲基化),其与至少一个氨基酸的取代、添加或去除或其组合一起,或独立于至少一个氨基酸的取代、添加或去除或其组合;但不限于此。

[0156] 在一个具体实施方式中,本发明的GLP-2衍生物可在氨基酸序列中与天然GLP-2具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%或更高的同源性或同一性,和/或可以是GLP-2中的氨基酸残基的某些基团被化学取代(例如, $\alpha$ -甲基化、 $\alpha$ -羟基化和用叠氮基取代)、去除(例如,脱氨基)和/或修饰(例如,N-甲基化)的形式,但不限于此。

[0157] 在一个具体实施方式中,本发明的GLP-2的N端氨基可被取代、去除或修饰,但不限于此。为了防止与作为GLP-2体内活性的重要位点的N端结合,在制备长效缀合物期间,本发明的GLP-2可通过去除N端组氨酸的 $\alpha$ 氨基的方法、用羟基或羧基取代N端氨基并进行合成的方法、去除N端组氨酸的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基以仅留下咪唑并乙酰基官能团的方法、N端氨基被两个甲基修饰的方法等来制备。

[0158] 具体地,GLP-2衍生物可以是GLP-2的N端第一个氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基-去组氨酰-GLP-2 (CA-GLP-2);GLP-2的N端氨基被去除的去氨基组氨酰GLP-2 (DA-GLP-2);GLP-2的N端氨基被羟基取代的 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酰GLP-2 (HY-GLP-2);GLP-2的N端氨基被两个甲基修饰的N-二甲基组氨酰GLP-2 (DM-GLP-2);或GLP-2的N端氨基被羧基取代的 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基-去组氨酰GLP-2 (CX-GLP-2),但不限于此。作为非限制性示例,用于制备GLP-2衍生物的物质结构如下。



[0160] 在本文中,咪唑并乙酰基去组氨酰 (dine)、去氨基组氨酰 (dine)、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酰 (dine)、N-二甲基组氨酰 (dine) 和 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酰 (dine) 可分别以与咪唑并乙酰基、去氨基-组氨酰、 $\beta$ -羟基-咪唑并丙酰基、二甲基-组氨酰和 $\beta$ -羧基-咪唑并丙酰基相同的含义使用。

[0161] 在一个具体实施方式中,GLP-2衍生物可经历SEQ ID NO:1中第1、2、30和33位氨基酸当中至少一个氨基酸的修饰,但不限于此。具体地,修饰可以是选自至少一个氨基酸的取代、添加、去除和修饰及其组合的修饰,此时添加的氨基酸也可以是非天然氨基酸(例如,D型氨基酸),并且除了天然氨基酸之外,用非天然氨基酸取代也是可能的。添加的氨基酸序列可衍生自天然GLP-2,但不限于此。此外,在本发明中,氨基酸的修饰可意为氨基酸残基的

某些基团被化学取代(例如, $\alpha$ -甲基化、 $\alpha$ -羟基化、用叠氮基取代)、去除(例如,脱氨基)和/或修饰(例如,N-甲基化),其与至少一个氨基酸的取代、添加或去除或其组合一起,或独立于至少一个氨基酸的取代、添加或去除或其组合,但不限于此。

[0162] 在一个具体实施方式中,GLP-2衍生物可包括由下列通式1表示的氨基酸序列,但不限于此:

[0163] [通式1]

[0164]  $X_1X_2DGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTX_{30}ITDX_{34}$  (SEQ ID NO:9)

[0165] 其中,

[0166]  $X_1$ 是组氨酸、咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸;

[0167]  $X_2$ 是丙氨酸、甘氨酸或2-氨基异丁酸(Aib);

[0168]  $X_{30}$ 是赖氨酸或精氨酸;并且

[0169]  $X_{34}$ 不存在,或是赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、6-叠氮基赖氨酸或半胱氨酸。

[0170] 在另一个具体实施方式中,GLP-2衍生物可包括由下列通式2表示的氨基酸序列,但不限于此:

[0171] [通式2]

[0172]  $X_1X_2DGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTX_{30}ITDX_{34}$  (SEQ ID NO:10)

[0173]  $X_1$ 是组氨酸、咪唑并乙酰基去组氨酸、去氨基组氨酸、 $\beta$ -羟基咪唑并丙酰基去组氨酸、N-二甲基组氨酸或 $\beta$ -羧基咪唑并丙酰基去组氨酸;

[0174]  $X_2$ 是丙氨酸、甘氨酸或2-氨基异丁酸(Aib);

[0175]  $X_{30}$ 是赖氨酸或精氨酸;并且

[0176]  $X_{34}$ 是一个或多个任意的氨基酸或经历变异的一个或多个任意的氨基酸。

[0177] 具体地,氨基酸可以是天然氨基酸或非天然氨基酸,并且氨基酸的修饰如上所述。

[0178] 此外,在由通式1或通式2表示的氨基酸序列当中,可从GLP-2衍生物中排除与SEQ ID NO:1相同的序列,但是GLP-2衍生物不限于此。

[0179] 具体地,本发明的GLP-2衍生物可具有用甘氨酸或Aib(2-氨基异丁酸)对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代;用精氨酸对第30个氨基酸即赖氨酸的取代;或其组合,但不限于此。此外,GLP-2衍生物还可具有被引入到C端(例如,第33个氨基酸)的硫醇基(例如,半胱氨酸)、氨基(例如,赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺或组氨酸)或叠氮基(例如,6-叠氮基赖氨酸),但GLP-2衍生物不限于此。

[0180] 在制备GLP-2衍生物的长效缀合物时,结合发生在引入基团处,从而允许制备具有选择性受控结合位置的GLP-2缀合物。具体地,连接体的一端可结合至GLP-2衍生物的羟基、硫醇基、氨基或叠氮基,而连接体的另一端可结合至能够增加体内半衰期的物质(例如,免疫球蛋白Fc区)。可通过向GLP-2添加氨基酸引入硫醇基、氨基或叠氮基,但引入不限于此。可通过向GLP-2添加半胱氨酸(C)引入硫醇基;可通过向GLP-2添加赖氨酸(K)、精氨酸(R)、谷氨酰胺(Q)或组氨酸(H)引入氨基;以及可通过向GLP-2添加6-叠氮基赖氨酸(AZK)引入叠氮基,但引入不限于此。

[0181] 具体地,根据本发明的GLP-2衍生物可具有至少一个残基,即半胱氨酸、赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸或6-叠氮基赖氨酸,但不限于此。

[0182] 具体地,本发明的GLP-2衍生物包括用甘氨酸对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代和将硫醇基(例如,半胱氨酸)引入到C端中,更具体地,可包括第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基去组氨酸,并且可具有例如SEQ ID NO:2的氨基酸序列,但不限于此。

[0183] 具体地,本发明的GLP-2衍生物可包括用甘氨酸对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代和将氨基(例如,赖氨酸)引入到C端中,更具体地,可包括第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基去组氨酸,并且可具有例如SEQ ID NO:3的氨基酸序列,但不限于此。

[0184] 具体地,本发明的GLP-2衍生物可包括用甘氨酸对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代、用精氨酸对天然GLP-2的第30个氨基酸即赖氨酸的取代和将氨基(例如,赖氨酸)引入到C端中,更具体地,可包括第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基去组氨酸,并且可具有例如SEQ ID NO:4的氨基酸序列,但不限于此。

[0185] 具体地,本发明的GLP-2衍生物可包括用甘氨酸对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代和将叠氮基(例如,6-叠氮基赖氨酸)引入到C端中,更具体地,可包括第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基去组氨酸,并且可具有例如SEQ ID NO:5的氨基酸序列,但不限于此。

[0186] 具体地,本发明的GLP-2衍生物可包括用甘氨酸对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代、用精氨酸对天然GLP-2的第30个氨基酸即赖氨酸的取代和将硫醇基(例如,半胱氨酸)引入到C端中,更具体地,可包括第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基去组氨酸,并且可具有例如SEQ ID NO:6的氨基酸序列,但不限于此。

[0187] 具体地,本发明的GLP-2衍生物可包括用2-氨基异丁酸对天然GLP-2的第2个氨基酸即丙氨酸的取代和将硫醇基(例如,半胱氨酸)引入到C端中,并且可具有例如SEQ ID NO:8的氨基酸序列,并且更具体地,GLP-2衍生物可包括第一个N端氨基酸组氨酸残基的 $\alpha$ 碳和与该 $\alpha$ 碳结合的N端氨基被去除的咪唑并乙酰基去组氨酸,并且可具有例如SEQ ID NO:7的氨基酸序列,但不限于此。

[0188] SEQ ID NO:2至8的GLP-2衍生物示于下表1中。

[0189] [表1]

名称	序列	SEQ ID NO:
CA GLP-2 KC	<i>ca</i> HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITDC	2
CA GLP-2 KK	<i>ca</i> HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITDK	3
CA GLP-2 RK	<i>ca</i> HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTRITDK	4
[0190] CA GLP-2 K <sub>Az</sub> K	<i>ca</i> HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD <sub>Az</sub> K	5
CA GLP-2 RC	<i>ca</i> HGDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTRITDC	6
CA GLP-2 Aib	<i>ca</i> HAibDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITDC	7
GLP-2 Aib	HAibDGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITDC	8

[0191] 在表1中,  $_{ca}H$ 表示组氨酸被咪唑并乙酰基去组氨酸取代; Aib表示2-氨基异丁酸; 以及AZK表示6-叠氮基-L-赖氨酸。

[0192] 根据本发明的GLP-2衍生物可以是包括上述具体序列的肽, 也可以是(主要)由上述具体序列组成的肽, 但不限于此。

[0193] 同时, 尽管在本文中描述了“由具体序列号组成(构成)”的肽或GLP-2, 但这并不排除在相应序列号的氨基酸序列之前和之后的无意义序列的添加, 或天然发生的突变, 或其沉默突变, 只要肽或GLP-2展现出与由相应序列号的氨基酸序列构成的肽或GLP-2相同或等同的活性即可, 并且显然具有此类序列添加或突变的肽或GLP-2也落入本申请的范围。

[0194] 具体地, GLP-2衍生物可以是式1或式2化合物, 其中(1)  $X_2$ 可以是甘氨酸或Aib, (2)  $X_{30}$ 可以是赖氨酸或精氨酸, 或(3)  $X_2$ 可以是甘氨酸或Aib, 并且 $X_{30}$ 可以是赖氨酸或精氨酸, 但GLP-2衍生物不限于此。

[0195] 具体地, GLP-2衍生物可以是,

[0196] (1)  $X_1$ 可以是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$ 可以是甘氨酸,  $X_{30}$ 可以是赖氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是半胱氨酸;

[0197] (2)  $X_1$ 可以是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$ 可以是甘氨酸,  $X_{30}$ 可以是赖氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是赖氨酸;

[0198] (3)  $X_1$ 可以是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$ 可以是甘氨酸,  $X_{30}$ 可以是精氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是赖氨酸;

[0199] (4)  $X_1$ 可以是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$ 可以是甘氨酸,  $X_{30}$ 可以是赖氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是6-叠氮基赖氨酸;

[0200] (5)  $X_1$ 可以是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$ 可以是甘氨酸,  $X_{30}$ 可以是精氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是半胱氨酸;

[0201] (6)  $X_1$ 可以是咪唑并乙酰基去组氨酸,  $X_2$ 可以是Aib,  $X_{30}$ 可以是赖氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是半胱氨酸; 或

[0202] (7)  $X_1$ 可以是组氨酸,  $X_2$ 可以是Aib,  $X_{30}$ 可以是赖氨酸, 并且 $X_{34}$ 可以是半胱氨酸, 但GLP-2衍生物不限于此。

[0203] 在本发明中, 用于制备天然GLP-2的激动剂、片段、变体和衍生物的这些修饰包括使用L型或D型氨基酸和/或非天然氨基酸的所有修饰; 和/或因对天然序列的修饰或翻译后修饰(例如, 甲基化、乙酰化、泛素化和分子内共价结合)的修饰。

[0204] 在本发明中, 为抵御体内蛋白水解酶并提高其稳定性, GLP-2或GLP-2衍生物的N端和/或C端可用有机基团化学修饰, 也可向GLP-2或GLP-2衍生物的例如端添加另外的氨基酸。

[0205] 具体地, 在化学合成肽的情况下, 由于N端和C端是带电的, 为了去除这些电荷, N端可被乙酰化和/或C端可被酰胺化, 但修饰不特别限于此。具体地, 在本发明中, GLP-2或GLP-2衍生物可使其C端未经修饰或是被酰胺化, 但不限于此。

[0206] 如本文所用, 术语“肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 抑制剂”是指降低TNF $\alpha$ 活性的任何物质, 并且包括但不限于与GLP-2或与GLP-2和促胰岛素肽两者的组合疗法中使用的物质, 其中组合疗法比单用时能够更有效地预防、改善或治疗肠病。具体地, TNF $\alpha$ 抑制剂可以通过与TNF $\alpha$ 或TNF $\alpha$ 受体结合而降低TNF $\alpha$ 活性, 从而最终阻断TNF $\alpha$ 与其受体之间的相互作用的物

质;也可以是通过减少细胞的TNF $\alpha$ 产生而减少TNF $\alpha$ 活性的物质,并且这些物质的形式不受限制,比如是化合物、核酸或肽。

[0207] 在一个具体示例中,TNF $\alpha$ 抑制剂可以是可溶性TNF受体[例如,依那西普(etanercept) ]、抗TNF $\alpha$ 抗体或其片段[例如,英夫利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、培塞利珠单抗(certolizumab pegol)和戈利木单抗(golimumab) ]、化合物[例如,沙利度胺及其衍生物(例如,来那度胺(lenalidomide)和泊马度胺(pomalidomide));黄嘌呤及其衍生物(例如,己酮可可碱);安非他酮;5-HT<sub>2A</sub>激动剂(例如,(R)-2,5-二甲氧基-4-碘代安非他明((R)-DOI)、TCB-2、麦角酸二乙胺(LSD)、麦角酸2,4-二甲基azetidide(LA-SS-Az))或其组合,但不限于此。除了这些物质之外,本领域已知的降低TNF $\alpha$ 活性的其它物质也可用作本发明中的TNF $\alpha$ 抑制剂。具体地,TNF $\alpha$ 抑制剂可以是可溶性TNF受体、抗TNF $\alpha$ 抗体或其片段,或其组合,但不限于此。

[0208] 在本发明中,促胰岛素肽和/或GLP-2可以是长效缀合物的形式,能够增加促胰岛素肽和/或GLP-2中每一个的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合,但不限于此。长效缀合物与未结合生物相容性物质(例如,免疫球蛋白Fc区)的促胰岛素肽或GLP-2衍生物相比,可展现出增强的功效持久性。在本发明中,含有促胰岛素肽或GLP-2的缀合物被称为“促胰岛素肽长效缀合物或促胰岛素肽的长效缀合物”或“GLP-2长效缀合物或GLP-2的长效缀合物”,长效缀合物通过生物相容性物质与促胰岛素肽或GLP-2的结合而具有增加的半衰期。在本发明中,长效缀合物可与缀合物互换使用。

[0209] 在一个实施方式中,

[0210] (i) 促胰岛素肽可以是长效缀合物的形式,能够增加促胰岛素肽的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合,

[0211] (ii) GLP-2可以是长效缀合物的形式,能够增加GLP-2的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合;或

[0212] (iii) 促胰岛素肽和GLP-2中的每一个都是长效缀合物的形式,能够增加促胰岛素肽和GLP-2中的每一个的体内半衰期的生物相容性物质与长效缀合物结合。

[0213] 同时,这些缀合物可以是非天然存在的缀合物。

[0214] 此外,长效缀合物中促胰岛素肽或GLP-2与生物相容性物质(例如,免疫球蛋白Fc区)之间的键合(linkage)可以是物理键或化学键,也可以是非共价键或共价键,并且具体地可以是共价键,但不限于此。

[0215] 此外,连接长效缀合物中促胰岛素肽或GLP-2与生物相容性物质(例如,免疫球蛋白Fc区)的方法没有特别限制,但促胰岛素肽或GLP-2与生物相容性物质(例如,免疫球蛋白Fc区)可通过连接体彼此连接。

[0216] 此外,关于GLP-2的长效缀合物的韩国专利公开号10-2019-0037181通过引用并入本文。

[0217] 在一个具体实施方式中,本发明的促胰岛素肽或GLP-2的长效缀合物可具有由下列式1表示的结构,但不限于此。

[0218] [式1]

[0219] X-La-F

[0220] 其中,

- [0221] X是促胰岛素肽或GLP-2;
- [0222] L是连接体(例如,含有乙二醇重复单元的连接体);
- [0223] a是0或自然数,前提是当a是2或更大时,每个L彼此独立;
- [0224] F是能够增加X的体内半衰期的生物相容性物质(例如,免疫球蛋白Fc区);并且
- [0225] “-”是化学键(例如,共价键)。
- [0226] 更具体地,X和L以及L和F可通过共价键彼此连接,并且具体地,缀合物可以是X、L和F按式1的顺序通过共价键彼此连接的缀合物。
- [0227] 此外,F还可直接与X连接(即式1中a为0),也可通过连接体(L)连接。
- [0228] 在根据本发明的缀合物中,F是能够增加X——即根据本发明的促胰岛素肽或GLP-2的半衰期的物质,并且对应于构成本发明的缀合物的部分的组成部分。
- [0229] F可通过共价化学键或非共价化学键与X结合,F和X也可通过L由共价化学键、非共价化学键或其组合彼此结合。
- [0230] F是能够增加X的体内半衰期的生物相容性物质,并且可选自例如高分子量聚合物、脂肪酸、胆固醇、白蛋白及其片段、白蛋白结合物质、具体氨基酸序列的重复单元的聚合物、抗体、抗体片段、FcRn结合物质、体内结缔组织、核苷酸、纤连蛋白、转铁蛋白、糖、肝素和弹性蛋白,但不特别限于此。
- [0231] 弹性蛋白可以是人原弹性蛋白——其为水溶性前体——可以是某些序列或其某些重复单元的聚合物,并且包括例如所有类似弹性蛋白的多肽,但不特别限于此。
- [0232] 高分子量聚合物的示例可包括选自下列的高分子量聚合物:聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、乙二醇-丙二醇共聚物、聚乙氧基化多元醇、聚乙烯醇、多糖、聚乙烯基醚、生物可降解聚合物、脂质聚合物、几丁质、透明质酸、寡核苷酸及其组合,并且多糖可包括葡聚糖,但不特别限于此。
- [0233] 在本说明书中,聚乙二醇是涵盖所有形式的乙二醇均聚物、PEG共聚物或单甲基取代的PEG聚合物(mPEG)的术语,但不特别限于此。
- [0234] 此外,生物相容性物质还包括聚氨基酸如聚赖氨酸、聚天冬氨酸和聚谷氨酸,但不限于此。
- [0235] 此外,脂肪酸还可以是在体内对白蛋白具有结合亲和力的脂肪酸,但不特别限于此。
- [0236] 作为F的示例,F可以是FcRn结合物质,并且FcRn结合物质具体可以是免疫球蛋白Fc区,更具体地是IgG Fc区,再更具体地是非糖基化IgG4 Fc区,但F不特别限于此。
- [0237] 作为本发明的具体示例,F(例如,免疫球蛋白Fc区)是由两条多肽链构成的二聚体,并且可具有L的一端仅与这两条多肽链中的一条多肽链连接的结构,但不限于此。
- [0238] 在一个具体实施方式中,本发明的长效缀合物可以是促胰岛素肽或GLP-2与免疫球蛋白Fc区连接的长效缀合物,但不限于此。
- [0239] 在本发明中,“免疫球蛋白Fc区”意为不包括免疫球蛋白的重链和轻链可变区的重链恒定区。具体地,免疫球蛋白Fc区可包括重链恒定区2(CH2)和/或重链恒定区3(CH3)部分,并且更具体地还可包括铰链区(指铰链区的全部或部分)。免疫球蛋白Fc区可以是本发明缀合物的部分的组成部分。具体地,免疫球蛋白Fc区对应于式1中的F。
- [0240] 在本说明书中,Fc区不仅包括由木瓜蛋白酶消化免疫球蛋白获得的天然序列,还

包括其衍生物、取代和修饰,例如,天然序列中的一个或多个氨基酸残基通过缺失、插入、非保守或保守取代或其组合而改变以不同于天然序列的序列。这些衍生物、取代和修饰的前提是具有与FcRn结合的能力。

[0241] F(例如,免疫球蛋白Fc区)具有两条多肽链通过二硫键连接的结构,并且可具有仅通过这两条链中一条中的氮原子形成键合的结构,但不限于此。通过氮原子的键合可通过赖氨酸的 $\epsilon$ -氨基原子或N端氨基的还原胺化连接。

[0242] 还原胺化反应是指一个反应物的胺基或氨基与另一反应物的醛基(即能够还原胺化的官能团)反应产生胺,然后通过还原反应形成胺键的反应,并且是本领域公知的有机合成反应。

[0243] 作为一个具体示例,免疫球蛋白Fc区可通过其N端氮原子连接。

[0244] 这种免疫球蛋白Fc区可在重链恒定区中包括铰链部分,但不限于此。

[0245] 在本发明中,免疫球蛋白Fc区可在N端包括具体铰链序列。

[0246] 如本文所用,术语“铰链序列”是指位于重链中、通过间二硫键形成免疫球蛋白Fc区的二聚体的位点。

[0247] 在本发明中,铰链序列可通过缺失具有以下氨基酸序列的铰链序列的一部分而突变为仅有一个半胱氨酸残基,但不限于此:

[0248] Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:11)。

[0249] 铰链序列可通过缺失SEQ ID NO:11的铰链序列中第8位或第11位的半胱氨酸残基而仅包括一个半胱氨酸残基。本发明的铰链序列可由3至12个氨基酸组成,仅包括一个半胱氨酸残基,但不限于此。更具体地,本发明的铰链序列可具有以下序列:Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:12)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser-Pro (SEQ ID NO:12) No.13)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser (SEQ ID NO:14)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Pro (SEQ ID NO:15)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro-Ser (SEQ ID NO:16)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:17)、Glu-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:18)、Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:19)、Glu-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:20)、Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:21)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:22)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:23)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:24)、Glu-Ser-Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys (SEQ ID NO:25)、Lys-Tyr-Gly-Pro-Pro-Cys-Pro (SEQ ID NO:26)、Glu-Ser-Lys-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:27)、Glu-Ser-Pro-Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:28)、Glu-Pro-Ser-Cys (SEQ ID NO:29)和Ser-Cys-Pro (SEQ ID NO:30)。

[0250] 更具体地,铰链序列可包括SEQ ID NO:21 (Pro-Ser-Cys-Pro)或SEQ ID NO:30 (Ser-Cys-Pro)的氨基酸序列,但不限于此。

[0251] 在本发明的长效缀合物的更具体形式中,缀合物中免疫球蛋白Fc区的N端是脯氨酸,并且缀合物具有通过脯氨酸的氮原子与连接体连接的免疫球蛋白Fc区。

[0252] 在一个具体实施方式中,免疫球蛋白Fc区可以是二聚体的形式,其中免疫球蛋白Fc区的两条链因铰链序列的存在而形成同型二聚体或异型二聚体。本发明的式1所表示的缀合物可以是连接体的一端连接至二聚体的免疫球蛋白Fc区的一条链的形式,但不限于此。

[0253] 如本文所用,术语“N端”是指蛋白质或多肽的氨基端,并且可包括氨基端处的最末残基,或自该端的最末残基起上至1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个氨基酸。本发明的免疫球蛋白Fc区可在N端包括铰链序列,但不限于此。

[0254] 此外,本发明的免疫球蛋白Fc区可以是扩展的Fc区,其包括部分或全部重链恒定区1(CH1)和/或轻链恒定区1(CL1),并且只是不包括免疫球蛋白的重链和轻链可变区,前体是其具有与天然型相比基本上等同或改善的效果。此外,免疫球蛋白Fc区还可以是与CH2和/或CH3相对应的相当长的氨基酸序列的部分被去除的区域。

[0255] 例如,本发明的免疫球蛋白Fc区可以是1)CH1结构域、CH2结构域、CH3结构域和CH4结构域,2)CH1结构域和CH2结构域,3)CH1结构域和CH3结构域,4)CH2结构域和CH3结构域,5)CH1结构域、CH2结构域、CH3结构域和CH4结构域当中的一个或两个或更多个结构域与免疫球蛋白铰链区(或铰链区的一部分)的组合,或6)重链恒定区和轻链恒定区的各结构域的二聚体,但不限于此。

[0256] 此外,作为本发明的长效缀合物的一个实施方式,免疫球蛋白Fc区可以是二聚体形式,并且一分子X可以以二聚体的形式与一个Fc区共价连接。具体地,免疫球蛋白Fc和X可通过同一个连接体彼此连接。同时,两个X分子也可以以二聚体形式对称连接至一个Fc区。具体地,免疫球蛋白Fc和X可通过连接体彼此连接。然而,免疫球蛋白Fc区不限于上述示例。

[0257] 此外,本发明的免疫球蛋白Fc区不仅包括天然氨基酸序列,还包括其序列衍生物。氨基酸序列衍生物是指这样的序列:通过缺失、插入、非保守或保守取代或其组合而与天然氨基酸序列存在一个或多个氨基酸残基的差异。

[0258] 例如,在IgG Fc中,已知对结合重要的第214至238位、第297至299位、第318至322位或第327至331位的氨基酸残基可用作适合修饰的位点。

[0259] 此外,还可通过去除能够形成二硫键的位点,去除天然Fc的N端的几个氨基酸,或在天然Fc的N端添加甲硫氨酸残基以获得各种类型的衍生物。此外,为了消除效应物功能,还可去除补体结合位点(例如,C1q结合位点),也可去除抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)位点。国际专利申请公开号W0 97/34631、国际专利申请公开号96/32478等中公开了此类制备免疫球蛋白Fc区的序列衍生物的技术。

[0260] 蛋白质和肽中的氨基酸交换不会大幅改变该分子的活性,这是本领域已知的(H.Neurath,R.L.Hill,The Proteins,Academic Press,New York,1979)。最常发生的交换在氨基酸残基Ala/Ser、Val/Ile、Asp/Glu、Thr/Ser、Ala/Gly、Ala/Thr、Ser/Asn、Ala/Val、Ser/Gly、Thy/Phe、Ala/Pro、Lys/Arg、Asp/Asn、Leu/Ile、Leu/Val、Ala/Glu和Asp/Gly之间。在某些情况下,可通过磷酸化、硫酸化、丙烯酸化、糖基化、甲基化、法尼基化、乙酰化和酰胺化修饰氨基酸。

[0261] 上述Fc衍生物展现出与本发明的Fc区等同的生物活性,并且可具有Fc区对热和pH增强的结构稳定性。

[0262] 此外,这样的Fc区还可从在体内分离自动物如人、牛、山羊、猪、小鼠、兔、仓鼠、大鼠、豚鼠或类似动物的天然类型获得,Fc也可以是从转化的动物细胞或微生物或其衍生物获得的重组体。具体地,从天然型获得Fc区的方法可以通过从人或动物的活体分离整个免疫球蛋白,然后用蛋白酶处理该免疫球蛋白获得Fc区的方法。用木瓜蛋白酶处理时,免疫球蛋白被裂解为Fab和Fc,而用胃蛋白酶处理时,免疫球蛋白被裂解为pF'c和F(ab)2。Fc或

pF'c可通过尺寸排阻色谱法或类似方法从中分离出来。在更具体的实施方式中,Fc区是重组免疫球蛋白Fc区,其中人来源的Fc区获自微生物。

[0263] 此外,免疫球蛋白Fc区可以是天然型糖链、与天然型相比增加的糖链、与天然型相比减少的糖链或糖链被去除的形式。使用微生物的常规方法如化学法、酶促法和基因工程法可用于增加、减少或去除免疫球蛋白Fc糖链。具体地,糖链从Fc去除的免疫球蛋白Fc区具有显著降低的结合补体(c1q)的能力,具有降低或消除的抗体依赖性细胞毒性或补体依赖性细胞毒性,因此不会引发体内不必要的免疫应答。在这方面,更适合其作为药物载剂的最初目的的形式是去糖基化或非糖基化免疫球蛋白Fc区。

[0264] 在本发明中,术语“去糖基化”是指糖被酶去除的Fc区,而术语“非糖基化”是指由原核动物,在更具体的实施方式中是大肠杆菌(E.coli)所产生并且未被糖基化的Fc区。

[0265] 同时,免疫球蛋白Fc区可以是人来源或动物来源如牛、山羊、猪、小鼠、兔、仓鼠、大鼠、豚鼠或类似动物来源的免疫球蛋白Fc区,并且在更具体的实施方式中是人来源的免疫球蛋白Fc区。

[0266] 此外,免疫球蛋白Fc区还可以是衍生自IgG、IgA、IgD、IgE或IgM、其组合或其杂合体的Fc区。在更具体的实施方式中,免疫球蛋白Fc区衍生自IgG或IgM——其在人血液中最丰富,而在再更具体的实施方式中,免疫球蛋白Fc区衍生自已知增加配体结合蛋白的半衰期的IgG。在再又更具体的实施方式中,免疫球蛋白Fc区是IgG4 Fc区,而在最具体的实施方式中,其为衍生自人IgG4的非糖基化Fc区,但不限于此。

[0267] 此外,作为一个实施方式,免疫球蛋白Fc区是人IgG4 Fc的片段,并且可以是同型二聚体,其中两个单体通过作为各自单体第3位的氨基酸半胱氨酸之间的二硫键(链间形式)连接,并且具体地,同型二聚体在第35位与第95位的半胱氨酸之间具有/可以具有二硫键以及在第141位与第199位的半胱氨酸之间具有/可以具有二硫键,即在每个单体中两个二硫键(链内形式)。

[0268] 每个单体中氨基酸的数量可为221,并且形成同型二聚体的氨基酸可总共为442个氨基酸,但不限于此。具体地,免疫球蛋白Fc区可以是包括SEQ ID NO:35的氨基酸序列(由442个氨基酸组成)的同型二聚体(具体地,具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列(由221个氨基酸组成)的两个单体可通过作为各自单体的第3位氨基酸半胱氨酸之间的二硫键形成同型二聚体,并且同型二聚体的单体可各自独立地在第35位与第95位的半胱氨酸之间形成分子内二硫键以及在第141位与第199位的半胱氨酸之间形成分子内二硫键),但不限于此。

[0269] 同时,在本发明中,与免疫球蛋白Fc区相关的术语“组合”是指当形成二聚体或多聚体时,编码相同来源的单链免疫球蛋白Fc区的多肽与不同来源的单链多肽形成键。换言之,二聚体或多聚体可由选自IgG Fc、IgA Fc、IgM Fc、IgD Fc和IgE Fc区的两个或更多个Fc区制备。

[0270] 在本发明中,术语“杂合体”是指对应于两个或更多个不同来源的免疫球蛋白Fc区的序列存在于单链免疫球蛋白恒定区中。在本发明中,各种各样的杂合体都是可能的。换言之,结构域的杂合可由选自IgG Fc、IgM Fc、IgA Fc、IgE Fc和IgD Fc的CH1、CH2、CH3和CH4的一至四个结构域组成,并且可包括铰链。

[0271] 同时,IgG也可分为IgG1、IgG2、IgG3和IgG4亚类,而在本发明中,其组合或其杂合也是可以使用的。具体地,免疫球蛋白Fc区是IgG2和IgG4亚类,而最具体地是IgG4的Fc

区——几乎没有补体依赖性细胞毒性 (CDC) 等效应物功能。

[0272] 与天然促胰岛素肽、天然GLP-2相比,或与未用F修饰的X相比,上述缀合物可展现出增强的功效持久性,并且这种缀合物不仅包括上述形式,还包括包封在生物可降解纳米颗粒中的所有形式,但不限于此。

[0273] 在式1中,连接体L可以是肽连接体或非肽连接体(例如,包括乙二醇重复单元的连接体)。

[0274] 当L是肽连接体时,肽连接体可含有一个或多个氨基酸,例如1至1000个氨基酸,但不特别限于此。在本发明中,各种已知的肽连接体都可用于连接F和X,并且示例包括[GS]<sub>x</sub>连接体、[GGGS]<sub>x</sub>连接体和[GGGGS]<sub>x</sub>连接体,其中x可以是1或更大的自然数。然而,肽连接体不限于这些示例。

[0275] 在本发明中,术语“非肽连接体”包括结合了两个或更多个重复单元的生物相容性聚合物。这些重复单元通过并非肽键的任意共价键彼此连接。非肽连接体可以是本发明缀合物的部分的组成部分,并且对应于式1中的L。

[0276] 用于本发明的非肽连接体可以非限制地是在体内对蛋白水解酶有抗性的任何聚合物。

[0277] 在本发明中,非肽连接体可与非肽聚合物互换使用。

[0278] 此外,尽管没有特别限制,但非肽连接体可选自聚乙二醇、聚丙二醇、乙二醇与丙二醇的共聚物、聚乙氧基化多元醇、聚乙烯醇、多糖(例如,葡聚糖)、聚乙烯基醚、生物可降解聚合物如聚乳酸(PLA)和聚乳酸-乙醇酸(PLGA)、脂质聚合物、几丁质、透明质酸、寡核苷酸及其组合。

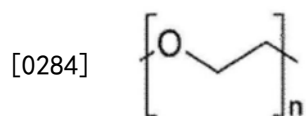
[0279] 此外,可用于本发明的非肽连接体可以非限制地是在体内对蛋白酶有抗性的任何聚合物,但具体地,非肽聚合物的分子量在大于0kDa至约100kDa、约1kDa至约100kDa的范围内,具体地在约1kDa至约50kDa、约1kDa至约20kDa、约1kDa至约10kDa或约3.4kDa至10kDa的范围内,但不限于此。

[0280] 尽管没有特别限制,但非肽连接体可以是包括乙二醇重复单元的连接体,例如,聚乙二醇和本领域已知的其衍生物以及可以本领域技术水平容易制备的衍生物也包括在本发明的范围内。

[0281] 非肽连接体的重复单元可以是乙二醇重复单元。具体地,非肽连接体可包括乙二醇重复单元,同时在其端处包括用于制备缀合物的官能团。根据本发明的长效缀合物可以是X和F通过该官能团连接的形式,但不限于此。在本发明中,非肽连接体可包含两个或三个或更多个官能团,并且相应的官能团可彼此相同或不同,但不限于此。

[0282] 具体地,连接体可包括由下式4表示的重复单元。其示例包括聚乙二醇(PEG),但不限于此:

[0283] [式4]



[0285] 其中, $n=10$ 至2400, $n=10$ 至480,或 $n=50$ 至250,但不限于此。

[0286] 在长效缀合物中,PEG部分可以不仅包括 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 结构,还包括介于连接元件

与 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 之间的氧原子,但不限于此。

[0287] 此外,在一个具体实施方式中,缀合物可以是促胰岛素肽或GLP-2与免疫球蛋白Fc区(F)通过含有乙二醇重复单元的连接体共价连接的结构,但不限于此。

[0288] 术语“聚乙二醇”涵盖所有形式的乙二醇均聚物、PEG共聚物和单甲基取代PEG聚合物(mPEG),但不特别限于此。

[0289] 在一个实施方式中,乙二醇重复单元可由例如 $[\text{OCH}_2\text{CH}_2]_n$ 表示,其中n值是自然数,并且可被确定使得肽缀合物中 $[\text{OCH}_2\text{CH}_2]_n$ 部分的平均分子量(例如,数均分子量)大于0kDa至约100kDa,但不限于此。作为另一个示例,n值是自然数,并且肽缀合物中 $[\text{OCH}_2\text{CH}_2]_n$ 部分的平均分子量(例如,数均分子量)可为约1kDa至约100kDa、约1kDa至约80kDa、约1kDa至约50kDa、约1kDa至约30kDa、约1kDa至约25kDa、约1kDa至约20kDa、约1kDa至约15kDa、约1kDa至约13kDa、约1kDa至约11kDa、约1kDa至约10kDa、约1kDa至约8kDa、约1kDa至约5kDa、约1kDa至约3.4kDa、约3kDa至约30kDa、约3kDa至约27kDa、约3kDa至约25kDa、约3kDa至约22kDa、约3kDa至约20kDa、约3kDa至约18kDa、约3kDa至约16kDa、约3kDa至约15kDa、约3kDa至约13kDa、约3kDa至约11kDa、约3kDa至约10kDa、约3kDa至约8kDa、约3kDa至约5kDa、约3kDa至约3.4kDa、约8kDa至约30kDa、约8kDa至约27kDa、约8kDa至约25kDa、约8kDa至约22kDa、约8kDa至约20kDa、约8kDa至约18kDa、约8kDa至约16kDa、约8kDa至约15kDa、约8kDa至约13kDa、约8kDa至约11kDa、约8kDa至约10kDa、约9kDa至约15kDa、约9kDa至约14kDa、约9kDa至约13kDa、约9kDa至约12kDa、约9kDa至约11kDa、约9.5kDa至约10.5kDa、约3.4kDa或约10kDa,但不限于此。

[0290] 如本文所用,术语“约”是包括 $\pm 0.5$ 、 $\pm 0.4$ 、 $\pm 0.3$ 、 $\pm 0.2$ 、 $\pm 0.1$ 等所有的范围,并且包括与跟在术语“约”之后的数值相等或近似的所有数值,但不限于此。

[0291] 此外,与免疫球蛋白Fc区结合的本发明的非肽连接体不仅可以是一种聚合物,还可以是不同种类的聚合物的组合。

[0292] 在一个具体实施方式中,非肽连接体的两端可与免疫球蛋白Fc区的硫醇基、氨基或羟基,以及与GLP-2的硫醇基、氨基、叠氨基或羟基连接,但不限于此。

[0293] 具体地,非肽连接体可包括在两端分别与免疫球蛋白Fc和促胰岛素肽或GLP-2连接的反应性基团,具体地,能够与半胱氨酸的硫醇基结合的反应性基团;位于赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺和/或组氨酸的N端的氨基;和/或位于免疫球蛋白Fc区的C端并且能够与半胱氨酸的硫醇基结合的羟基;赖氨酸、精氨酸、谷氨酰胺和/或组氨酸的氨基;叠氨基赖氨酸的叠氨基;和/或GLP-2中的羟基,但不限于此。

[0294] 更具体地,非肽聚合物的反应性基团可以是选自醛基、马来酰亚胺基和琥珀酰亚胺衍生物中的一种或多种,但不限于此。

[0295] 在上文中,醛基的示例包括丙醛基或丁醛基,但不限于此。

[0296] 在上文中,琥珀酰亚胺衍生物可以是琥珀酰亚胺基羧甲基、戊酸琥珀酰亚胺酯、甲基丁酸琥珀酰亚胺酯、甲基丙酸琥珀酰亚胺酯、丁酸琥珀酰亚胺酯、丙酸琥珀酰亚胺酯、N-羟基琥珀酰亚胺、羟基琥珀酰亚胺基或碳酸琥珀酰亚胺酯,但不限于此。

[0297] 通过如上所述的反应性基团将生物相容性物质(例如,免疫球蛋白Fc)与促胰岛素肽或GLP-2连接,可将非肽连接体转化为非肽聚合物键合。

[0298] 此外,通过醛键还原烷基化产生的终产物比通过酰胺键连接产生的终产物要更稳

定。在低pH下,醛反应性基团选择性地与N端反应,而在高pH下(例如,在pH 9.0下),可与赖氨酸残基形成共价键。

[0299] 本发明的非肽连接体的端反应性基团彼此可以相同或不同。非肽连接体可在端处具有醛反应性基团,并且另外地,非肽连接体可在每个端处具有醛基和马来酰亚胺反应性基团,也可在每个端处具有醛基和琥珀酰亚胺反应性基团,但不限于此。

[0300] 例如,非肽连接体可在一端具有马来酰亚胺基团,而在另一端具有醛基、丙醛基或丁醛基。在另一个示例中,非肽连接体可在一端具有琥珀酰亚胺基,而在另一端具有丙醛基或丁醛基。

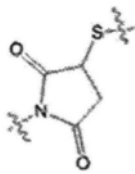
[0301] 在使用在丙酸端具有羟基的聚乙二醇作为非肽连接体的情况下,本发明的缀合物可通过已知的化学反应将羟基活化成各种反应性基团,或使用具有修饰的反应性基团的可商购聚乙二醇来制备。

[0302] 在具体实施方式中,非肽连接体的反应性基团可与促胰岛素肽或GLP-2中的半胱氨酸残基连接,更具体地,与半胱氨酸的-SH基团连接,但不限于此。

[0303] 如果使用马来酰亚胺-PEG-醛,则马来酰亚胺基可通过硫醚键与促胰岛素肽或GLP-2中的-SH基团连接,而醛基可通过还原烷基化反应与免疫球蛋白Fc中的-NH<sub>2</sub>基团连接,但非肽连接体不限于此,而这对应的是一个示例。

[0304] 通过这种还原烷基化,免疫球蛋白Fc区的N端氨基可通过具有-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-结构的连接体官能团与位于PEG一端的氧原子连接形成-PEG-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH-免疫球蛋白Fc等结构,并且PEG一端与位于GLP-2中或GLP-2的半胱氨酸处的硫原子连接的结构可通过硫醚键形成。上述硫醚键可包括如下结构:

[0305]



[0306] 然而,非肽连接体不特别限于上述示例,而这对应的是一个示例。

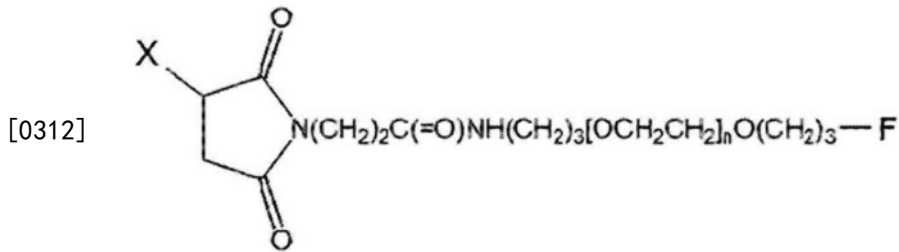
[0307] 此外,在缀合物中,非肽连接体的反应性基团还可连接到位于免疫球蛋白Fc区的N端的-NH<sub>2</sub>,而这对应的是一个示例。

[0308] 此外,在缀合物中,促胰岛素肽或GLP-2还可通过C端与具有反应性基团的非肽连接体连接,而这对应的是一个示例。

[0309] 在本发明中,术语“C端”是指肽的羧基端,而就本发明的目的而言,是指能够与非肽聚合物结合的位置。例如,尽管C端没有限制,但其可包括C端的端氨基酸残基以及C端周围的氨基酸残基,具体地可包括从该端起第一至第二十个氨基酸残基。

[0310] 在一个实施方式中,由式1表示的缀合物可具有由下式2或式3表示的结构。

[0311] [式2]



[0313] [式3]

[0314]  $X-(CH_2)_3[OCH_2CH_2]_nO(CH_2)_3-F$

[0315] 在式2或式3中,X可以是式1中的上述肽;

[0316] F可以是免疫球蛋白Fc片段;并且

[0317] n可以是自然数。具体地,对n的描述如上所述。

[0318] 在一个实施方式中,由式2表示的长效缀合物可具有这样的结构:促胰岛素肽或GLP-2的X与免疫球蛋白Fc区的F通过乙二醇重复单元共价连接,其中X可连接至式2中的琥珀酰亚胺环并且F可连接至式2中的氧化丙烯基团。此外,由式3表示的长效缀合物可具有这样的结构:促胰岛素肽或GLP-2的X与免疫球蛋白Fc区的F通过乙二醇重复单元共价连接,并且X可连接至式3中的氧化丙烯基团并且F可连接至式3中的另一个氧化丙烯基团。

[0319] 在式2或式3中,n的值可被确定使得肽缀合物中 $[OCH_2CH_2]_n$ 部分的平均分子量(例如,数均分子量)为1kDa至100kDa,或1kDa至20kDa,或10kDa,但不限于此。

[0320] 在一个实施方式中,式2中的琥珀酰亚胺环或X与式2中的琥珀酰亚胺环连接的位点可以是X的C端半胱氨酸的硫原子。此外,式3中的氧化丙烯基团或X与式3中的氧化丙烯基团连接的位点可以是X的C端半胱氨酸的硫原子。

[0321] F中与式2或式3中的氧化丙烯基团连接的位点没有特别限制。在本发明的一个实施方式中,F与氧化丙烯基团连接的位点可以是N端氮或F内残基的氮原子(例如,赖氨酸的 $\epsilon$ 氮)。在本发明的一个具体实施方式中,F与式2或式3中的氧化丙烯基团连接的位点可以是F的N端脯氨酸,但不限于此。

[0322] 同时,根据本发明的促胰岛素肽、GLP-2、其长效缀合物或TNF $\alpha$ 抑制剂包括其自身、其盐(例如,药学上可接受的盐)或其溶剂化物的所有形式。

[0323] 此外,促胰岛素肽、GLP-2、其长效缀合物或TNF $\alpha$ 抑制剂可以是任何药学上可接受的形式。

[0324] 盐的种类没有特别限制。然而,盐优选是对对象(例如,哺乳动物)安全有效的形式,但不特别限于此。

[0325] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”包括衍生自药学上可接受的无机酸、有机酸或碱的盐。合适的酸的示例包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、富马酸、马来酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、酒石酸、乙酸、柠檬酸、甲磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、苯磺酸等。由合适的碱衍生的盐可包括碱金属如钠和钾,或碱土金属如镁以及铵。

[0326] 如本文所用,术语“溶剂化物”是指由根据本发明的肽、化合物或其盐与溶剂分子形成的复合物。

[0327] 本发明的天然促胰岛素肽和修饰的促胰岛素肽、GLP-2和GLP-2衍生物以及TNF $\alpha$ 抑

制剂可通过固相合成法合成,也可通过重组法生产,以及可通过商业请求来制备,并且可使用商业上可获得的产品。

[0328] 在另一个实施方式中,本发明的组合、药物组合物或药物套组可包括:

[0329] (i) GLP-2和促胰岛素肽,

[0330] GLP-2和TNF $\alpha$ 抑制剂,或

[0331] GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂;

[0332] (ii) GLP-2,以及与能够增加其体内半衰期的生物相容性物质结合的促胰岛素肽长效缀合物,或

[0333] GLP-2、促胰岛素肽长效缀合物和TNF $\alpha$ 抑制剂;

[0334] (iii) 与能够增加其体内半衰期的生物相容性物质结合的GLP-2长效缀合物,以及促胰岛素肽,

[0335] GLP-2长效缀合物和TNF $\alpha$ 抑制剂,或

[0336] GLP-2长效缀合物、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂;或

[0337] (iv) 与能够增加其体内半衰期的生物相容性物质结合的GLP-2长效缀合物,以及与能够增加其体内半衰期的生物相容性物质结合的促胰岛素肽长效缀合物,或

[0338] GLP-2长效缀合物、促胰岛素肽长效缀合物和TNF $\alpha$ 抑制剂。

[0339] 本发明的组合、药物组合物或药物套组可用于预防、改善或治疗肠病。

[0340] 如本文所用,术语“预防”是指通过施用包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合;或包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合物而抑制或延迟目标疾病(例如,肠病)的发作的任何作用。术语“治疗”是指通过施用包括包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合;或包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者的组合物而改善或有益于目标疾病(例如,肠病)的症状的任何作用。术语“改善”是指至少降低与通过施用本发明的组合或组合物所治疗的状况相关的参数(例如,症状的严重性)的任何作用。

[0341] 如本文所用,术语“施用”是指通过任何适当的方法将给定物质引入患者体内,并且尽管组合物的施用途径不特别受限,但其可以是GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂通过其能够在体内到达目标的任何一般途径。施用可以是例如腹膜内施用、静脉内施用、肌肉施用、皮下施用、皮内施用、口服施用、局部施用、鼻内施用、肺内施用、直肠内施用或类似施用。

[0342] 在本发明的方法中,GLP-2、促胰岛素肽和TNF $\alpha$ 抑制剂可通过相同的施用途径或通过不同的施用途径施用,并且组合施用的药物的施用途径可彼此独立。

[0343] GLP-2可与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合使用以预防或治疗肠病。

[0344] 肠病可以是选自应激性肠病、肠炎、炎症性肠病、小肠结肠炎、结肠炎、胰腺炎、回肠炎、肠萎缩和肠损伤中的至少一种,但是通过本发明的组合物预防、改善或治疗的肠病不受限制地包括在内。

[0345] 在一个具体的示例中,肠病可以是炎症性肠病。炎症性肠病(IBD)是指以胃肠道炎症或溃疡为特征的炎性疾病,并且可表现出炎性细胞因子表达增加、体重减轻、结肠长度缩短、腹痛、发热、腹泻和/或便血等症状。这些症状可能反复恶化和改善,但不限于此。具体地,炎症性肠病可以是选自溃疡性结肠炎、克罗恩病和贝切特病中的至少一种,但不限于

此。

[0346] 根据本发明的组合或组合物可通过表现出下列当中的一种或多种效果来预防、改善或治疗肠病：对单核细胞中M1极化的抑制、对巨噬细胞分化的抑制和对单核细胞迁移的抑制，但不限于此。

[0347] 当向对象施用，根据本发明的组合或组合物通过引起下列当中的至少一种效果来预防、改善或治疗肠病：体重增加、小肠长度增加、胃肠能动性降低和营养物吸收增加，但不限于此。

[0348] 本发明的药物组合物还可包括药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂。此类药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂可以是非天然存在的载剂、赋形剂或稀释剂。

[0349] 如本文所用，术语“药学上可接受的”是指足以展现出治疗效果而不引起副作用的量，并且可由本领域技术人员根据医学领域公知的因素容易地确定，这些因素如疾病的种类、患者的年龄、体重、健康状况和性别、患者对药物的敏感性、施用途径、施用方法、施用次数、治疗期以及组合式使用或同时使用的药物。本发明的药物组合物还可包括药学上可接受的赋形剂。尽管赋形剂不特别受限，但粘合剂、润滑剂、崩解剂、增溶剂、分散剂、稳定剂、悬浮剂、色素、调味剂等可用于口服施用；缓冲剂、防腐剂、舒缓剂(soothing agents)、增溶剂、等渗剂、稳定剂等可用于混合物中以供注射；而基质(bases)、赋形剂、润滑剂、防腐剂等可用于局部施用。

[0350] 本发明组合物的配制物可通过将组合物与如上所述的药学上可接受的赋形剂组合而不同地制备。例如，组合物可制备成片剂、锭剂、胶囊剂、酏剂、悬浮液、糖浆剂、圆片(wafers)等形式以供口服施用，以及组合物可制备成单位剂量安瓿或多剂型以供注射。此外，组合物还可配制成溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊剂、缓释制剂等。

[0351] 同时，适于制剂的载剂、赋形剂和稀释剂的示例包括可以使用乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、木糖醇、赤藓糖醇、麦芽糖醇、淀粉、阿拉伯树胶、海藻酸盐、明胶、磷酸钙、硅酸钙、纤维素、甲基纤维素、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、水、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁、矿物油或类似物。此外，可进一步包括填料、抗凝剂、润滑剂、润湿剂、调味剂、防腐剂等。

[0352] 此外，本发明的药物组合物可具有选自片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊剂、悬浮液、内用溶液、乳剂、糖浆剂、灭菌水溶液、非水溶剂、冻干制剂和栓剂的任一种配制物。

[0353] 此外，组合物还可配制成适于施用到患者体内的单位剂型的制剂，具体是根据药学领域中的常规方法可用于施用蛋白质药物的制剂，并且采用本领域常用的施用方法通过口服施用途径或肠胃外施用途径施用，这些施用途径包括皮肤、静脉内、肌内、动脉内、髓内、鞘内、脑室内、肺、经皮、皮下、腹膜内、鼻内、胃内、局部、舌下、阴道内或直肠途径，但不限于此。

[0354] 此外，组合物还可与各种药学上可接受的载剂如生理盐水或有机溶剂组合使用，并且碳水化合物如葡萄糖、蔗糖或葡聚糖、抗氧化剂如抗坏血酸或谷胱甘肽、螯合剂、低分子量蛋白质、其它稳定剂或类似物可作为用剂使用以提高稳定性或吸收。

[0355] 本发明的药物组合物的施用剂量和次数根据活性成分的药物类型连同各种相关因素如目标疾病、施用途径、患者的年龄、性别和体重以及疾病的严重程度决定。具体地，本发明的组合物可包括药学有效量的促胰岛素肽、GLP-2或TNF $\alpha$ 抑制剂，但不限于此。

[0356] 以药学有效量包括促胰岛素肽、GLP-2或TNF $\alpha$ 抑制剂是指足以从促胰岛素肽、GLP-2和/或TNF $\alpha$ 抑制剂获得所需药理学活性的量,并且可以指不引起施用对象的毒性或副作用或引起不显著的毒性或副作用的药学上可接受的量,但不限于此。这样的药学有效量可通过综合考虑施用次数、患者、配制等确定。

[0357] 尽管没有特别限制,但本发明的药物组合物可包括0.01w/v%至99w/v%的量的成分(活性成分)。

[0358] 本发明组合物的总有效量可以单剂量向患者施用,也可按在长时间内施用多剂量的分级治疗方案向患者施用。本发明的药物组合物可包括活性成分,其含量根据疾病的严重程度而有所不同。具体地,本发明的肽或缀合物的优选总剂量可以是每1kg患者体重每天约0.0001mg至500mg,但不限于此。然而,缀合物对患者的有效剂量是考虑了各种因素如患者的年龄、体重、健康状况、性别、饮食和排泄率和疾病的严重程度以及药物组合物的施用途径和治疗次数确定的。因此,考虑到这一点,本领域技术人员将能够根据本发明组合物的具体用途确定适当的有效剂量。根据本发明的药物组合物不特别受限于其配制、施用途径和施用方法,只要其展现出本发明的效果即可。

[0359] 本发明的药物组合物具有优异的体内持久性和效力使得本发明的药物制剂的施用次数和频率能够被显著降低,但不限于此。

[0360] 体现本发明的另一方面提供用于预防、改善或治疗肠病的食品组合物,其包括GLP-2,其中食物组合物与促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者组合施用。

[0361] 促胰岛素肽、GLP-2、TNF $\alpha$ 抑制剂、预防、治疗、改善和肠病如上所述。

[0362] 食品组合物可作为保健功能食品使用。在本发明的组合物作为食品补充添加剂使用的情况下,促胰岛素肽、GLP-2、包含其的长效缀合物或其组合可按其原样加入或与其它食品或食品成分组合使用,并且可根据常规方法适当使用。组合使用的活性成分的量可根据使用目的(预防、保健或治疗性治疗)适当地确定。

[0363] 如本文所用,术语“保健功能食品”是指使用特定成分作为原料或通过诸如提取、浓缩、纯化和混合食品材料中所含的特定成分的方法以保健补充为目的而制造和加工的食品,并且是指经设计和加工以通过上述成分充分发挥生物调节功能如生物防御、生物节律调节、疾病预防和与活体相关疾病的康复的食品。保健食品用组合物能够执行与疾病预防、疾病康复等相关的功能。

[0364] 体现本发明的另一方面提供用于预防、改善或治疗肠病的方法,包括向有需要的对象施用GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。

[0365] 在另一个实施方式中,方法可以是用于预防、改善或治疗肠病的方法,包括在有需要的对象中施用和/或使用本发明的组合、药物组合物或药物套组。

[0366] 在另一个实施方式中,方法是用于预防、改善或治疗肠病的方法,包括在有需要的对象中施用和/或使用包括药学有效量的GLP-2的组合物,组合包括药学有效量的促胰岛素肽的组合物、包括药学有效量的TNF $\alpha$ 抑制剂的组合物或两者。

[0367] 促胰岛素肽、GLP-2、TNF $\alpha$ 抑制剂、组合使用、预防、治疗、改善、肠病、组合、药物组合物和药物套组如上所述。

[0368] 在本发明中,对象是疑似患有肠病的对象,其中疑似患有肠病的对象是指已经发展出或可能发展该疾病的哺乳动物,包括小鼠、家畜以及人。然而,能够由本发明的GLP-2组

合促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者治疗的对象不受限制地包括在内。此外,通过将本发明的GLP-2组合促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者向疑似肠病对象施用,能够有效地治疗该对象。肠病如上所述。

[0369] 本发明的方法可包括以药学有效量施用组合或药物组合物,其包括GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者。根据本发明的方法可以是作为单一制剂施用GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者,或作为同时、单独、相继或以逆序施用的单独制剂施用GLP-2,以及促胰岛素肽、TNF $\alpha$ 抑制剂或两者,但方法不限于此。

[0370] 适当的每日总量可由治疗医师在合理的医学判断范围内确定,并且可一次施用或分几次施用。然而,就本发明的目的而言,对于特定患者具体的治疗有效量优选有差异地施加,这取决于所期望的响应的种类和程度,在一些情况下,取决于是否组合使用其它用剂以及具体组合物、患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食、施用时间、施用途径和组合物的分泌速率、治疗期和与具体组合物一起使用或同时使用的药物,以及医学领域公知的类似因素。

[0371] 体现本发明的另一方面是组合、药物组合物或药物套组用于预防、改善或治疗肠病的用途和/或组合、药物组合物或药物套组在制备用于预防、改善或治疗肠病的药物中的用途。预防、改善、治疗、肠病、组合、药物组合物和药物套组如上所述。

[0372] 在下文中,将参考以下实施例更详细地描述本发明。然而,以下实施例仅用于举例说明本发明,而本发明的范围不限于此。

[0373] 实施例

[0374] 实施例1:长效GLP-1衍生物缀合物的制备

[0375] 1-1.CA-毒蜥外泌肽-4-PEG缀合物的制备

[0376] 通过CA-毒蜥外泌肽-4(N-[2-(1H-咪唑-5-基)乙酰基]-毒蜥外泌肽-4,Hanmi Fine Chemical,韩国)肽中第27个赖氨酸残基的胺基与两端都有醛(ALD)基的聚乙二醇(3.4kDa,ALD(2)PEG,Hanmi Fine Chemical,韩国)之间的共价键,制备了PEG化肽缀合物(单PEG化CA-毒蜥外泌肽-4)。具体地,在CA-毒蜥外泌肽-4:ALD(2)PEG的摩尔比为1:5至1:15,CA-毒蜥外泌肽-4的浓度为6mg/mL至12mg/mL,并且4°C至10°C至室温的温度下进行反应约4至12小时。此时,在pH为7.0至8.5的0.1M HEPES和约45%异丙醇中进行反应,并加入浓度为2mM至50mM的氰基硼氢化钠(NaCNBH<sub>3</sub>)以供反应。使用Source 15S(Cytiva,USA)柱,用包括柠檬酸钠的缓冲液(pH 2.0至3.5)与约45%乙醇和氯化钾浓度梯度纯化反应混合物。

[0377] 1-2.CA-毒蜥外泌肽-4-PEG-Fc缀合物的制备

[0378] 为了制备CA-毒蜥外泌肽-4-PEG-Fc缀合物,向实施例1-1中获得的单PEG化CA-毒蜥外泌肽-4中加入免疫球蛋白Fc片段,使总蛋白浓度为10mg/mL至50mg/mL,之后在4°C至10°C至室温下反应约12至17小时。此时,反应溶液是pH为5.5至8.5的0.1M磷酸钾,并加入2mM至50mM的氰基硼氢化钠作为还原剂。反应完成后,使用两种柱即疏水结合柱和阴离子交换柱纯化反应混合物中的CA-毒蜥外泌肽-4-PEG-Fc缀合物。疏水结合柱Source 15Phenyl(Cytiva,USA)使用Tris-HCl(pH 7.5)缓冲液和NaCl浓度梯度分离和纯化未反应的免疫球蛋白Fc片段,而阴离子交换柱Source 15Q(Cytiva,USA)使用Tris-HCl(pH 7.5)缓冲液和NaCl浓度梯度通过去除过度反应的杂质分离和纯化CA-毒蜥外泌肽-4-PEG-Fc缀合物。

[0379] 实施例2:长效GLP-2衍生物缀合物的制备

**[0380] 2-1. CAGLP-2RK-PEG缀合物的制备**

[0381] 为了用改性聚乙二醇ALD(2) PEG(两端的氢原子均被丙醛基(3-氧代丙基)取代的改性聚乙二醇,且乙二醇重复单元部分的式量为3.4kDa,由日本NOF Corporation制造)对表1中SEQ ID NO:4的GLP-2衍生物CA GLP-2RK PEG化,在GLP-2衍生物与ALD(2) PEG的摩尔比为1:5至1:20,GLP-2衍生物的浓度为5mg/mL至10mg/mL,并且温度为2°C至8°C下进行反应4至16小时。此时,在pH 7.5的20mM HEPES缓冲液和乙醇中进行反应,并加入20mM氰基硼氢化钠作为还原剂以供反应。使用Source 15S(GE,USA)柱,用pH 2.0的包括柠檬酸钠的缓冲溶液与乙醇和氯化钾浓度梯度对反应混合物进行单PEG化GLP-2衍生物的纯化。

**[0382] 2-2. CA GLP-2RK-PEG-Fc缀合物的制备**

[0383] 接下来,使纯化后的单PEG化GLP-2衍生物与免疫球蛋白Fc片段以摩尔比为1:2至1:6进行反应。将总蛋白浓度调整为30mg/mL至35mg/mL,并在2°C至8°C的温度下发生反应12至20小时。在反应期间,将20mM氰基硼氢化钠作为还原剂加入到含100mM磷酸钾缓冲液(pH 6.0)和异丙醇的反应溶液中。

[0384] 反应完成后,反应混合物用bis-Tris缓冲液(pH 6.5)和氯化钠浓度梯度施加到Source15Q(GE,USA)柱上,并用pH 5.0至5.2的硫酸铵和柠檬酸钠的浓度梯度施加到Source 15IS0(GE,USA)柱上以纯化GLP-2衍生物的长效缀合物,该缀合物中GLP-2衍生物通过聚乙二醇连接体与免疫球蛋白Fc片段共价连接。

[0385] 实施例3:通过长效GLP-1衍生物缀合物和长效GLP-2衍生物缀合物的组合处理证实THP-1细胞(单核细胞)中的M1极化抑制、巨噬细胞分化抑制和单核细胞迁移抑制

[0386] 如下进行体外实验以证实在用长效GLP-1衍生物缀合物、长效GLP-2衍生物缀合物和这两种缀合物的组合处理之后,对THP-1细胞(单核细胞)中的M1极化、巨噬细胞分化和单核细胞迁移的抑制作用。

**[0387] 【M1极化抑制证实实验】**

[0388] 用长效GLP-1衍生物缀合物(0.5 $\mu$ M或1 $\mu$ M)、长效GLP-2衍生物缀合物(10 $\mu$ M)以及长效GLP-1衍生物缀合物(0.5 $\mu$ M)与长效GLP-2衍生物缀合物(10 $\mu$ M)的组合对THP-1细胞处理4小时。为诱导炎症,以1 $\mu$ g/mL的脂多糖(LPS)处理2小时,并提取RNA,通过qPCR测量促炎细胞因子TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6(M1极化标记物)的mRNA表达水平。

**[0389] 【巨噬细胞分化抑制证实实验】**

[0390] 用长效GLP-1衍生物缀合物(0.1 $\mu$ M或1 $\mu$ M)、长效GLP-2衍生物缀合物(10 $\mu$ M)以及长效GLP-1衍生物缀合物(0.1 $\mu$ M)与长效GLP-2衍生物缀合物(10 $\mu$ M)的组合,对THP-1细胞处理48小时以使用佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-醋酸酯(phorbol 12-myristate13-acetate,PMA)诱导THP-1分化。然后对分化的细胞(即贴壁细胞)的数目进行计数。

**[0391] 【单核细胞迁移抑制实验】**

[0392] 用长效GLP-1衍生物缀合物(0.1 $\mu$ M或1 $\mu$ M)、长效GLP-2衍生物缀合物(10 $\mu$ M)、以及长效GLP-1衍生物缀合物(0.1 $\mu$ M)与长效GLP-2衍生物缀合物(10 $\mu$ M)的组合对THP-1细胞处理48小时。将经处理的THP-1细胞转移至Boyden室的上室,并向下室中加入50ng/mL CCL-2以诱导迁移,之后温育4小时。使用迁移测定试剂盒(Abcam)测量迁移程度。

[0393] 通过上述实验,证实了长效GLP-1衍生物缀合物和长效GLP-2衍生物缀合物各自对M1极化(图1,(A))、巨噬细胞分化(图1,(B))和单核细胞迁移(图1,(C))的抑制作用,并且证

实了当这两者组合施用这些作用得到进一步增强。

[0394] 实施例4:组合式施用长效GLP-1衍生物缀合物、长效GLP-2衍生物缀合物和抗TNF $\alpha$  mAb后对吡喹酮诱导的炎症性肠病大鼠模型中小肠长度增加和炎症减少的检查

[0395] 为了测量组合式施用长效GLP-1衍生物缀合物、长效GLP-2衍生物缀合物和抗TNF $\alpha$  mAb (BioXcell, 目录号BE0244) 后小肠长度增加和炎症减轻的体内功效,使用吡喹酮 (INN) 诱导的炎症性肠病大鼠模型。具体地,将8周龄雄性SD大鼠 (每组6只大鼠) 如下划分:

[0396] -G1:正常对照组 (无药物组, 媒介)

[0397] -G2:吡喹酮对照组 (吡喹酮7.5mg/kg, 在第1天和第2天 (D1和D2) 施用)

[0398] -G3:施用长效GLP-2衍生物缀合物 (3.1mg/kg/单次)、之后施用吡喹酮的组 (长效GLP-2衍生物缀合物3.1mg/kg/单次, D0; 吡喹酮7.5mg/kg, D1和D2)

[0399] -G4:施用长效GLP-1衍生物缀合物 (0.178mg/kg/单次)、之后施用吡喹酮 (长效GLP-1衍生物缀合物0.178mg/kg/单次, D0; 吡喹酮7.5mg/kg, D1和D2)

[0400] -G5:施用长效GLP-2衍生物缀合物 (3.1mg/kg/单次) 与长效GLP-1衍生物缀合物 (0.178mg/kg/单次) 的组合、之后施用吡喹酮的组 (长效GLP-2衍生物缀合物3.1mg/kg/单次, 长效GLP-1衍生物缀合物0.178mg/kg/单次, D0; 吡喹酮7.5mg/kg, D1和D2)

[0401] -G6:施用抗TNF $\alpha$ mAb (0.2mg/kg/单次)、之后施用吡喹酮的组 (抗TNF $\alpha$ mAb 0.2mg/kg/单次, D0; 吡喹酮7.5mg/kg, D1和D2)

[0402] -G7:施用长效GLP-2衍生物缀合物 (3.1mg/kg/单次) 与抗TNF $\alpha$ mAb (0.2mg/kg/单次) 的组合、之后施用吡喹酮的组 (长效GLP-2衍生物缀合物3.1mg/kg/单次, 抗TNF $\alpha$ mAb 0.2mg/kg/单次, D0; 吡喹酮7.5mg/kg, D1和D2)

[0403] -G8:施用长效GLP-2衍生物缀合物 (3.1mg/kg/单次)、长效GLP-1衍生物缀合物 (0.178mg/kg/单次) 和抗TNF $\alpha$ mAb (0.2mg/kg/单次) 的组合、之后施用吡喹酮的组 (长效GLP-2衍生物缀合物3.1mg/kg/单次, 长效GLP-1衍生物缀合物0.178mg/kg/单次, 抗TNF $\alpha$ mAb 0.2mg/kg/单次, D0; 吡喹酮7.5mg/kg, D1和D2)。

[0404] 在本说明书中,长效GLP-1衍生物缀合物或长效GLP-2衍生物缀合物的剂量是指从所使用的长效GLP-1衍生物缀合物或长效GLP-2衍生物缀合物的总质量中除去聚乙二醇连接体部分的质量所获得的值,即基于多肽部分的质量总和的值。

[0405] 在第3天,通过尸检测量小肠长度和伊文思蓝染色确定的溃疡面积。

[0406] 与吡喹酮对照组 (G2) 相比,施用长效GLP-2衍生物缀合物与长效GLP-1衍生物缀合物的组合、之后施用吡喹酮 (G5) 的组显示小肠长度增加25cm (图2) 且溃疡面积减少6.7% (图3)。与吡喹酮对照组 (G2) 相比,施用长效GLP-2衍生物缀合物与抗TNF $\alpha$ mAb的组合、之后施用吡喹酮 (G7) 的组显示小肠长度增加12cm (图2) 且溃疡面积减少3.5% (图3)。此外,与吡喹酮对照组 (G2) 相比,施用长效GLP-2衍生物缀合物、长效GLP-1衍生物缀合物和抗TNF $\alpha$ mAb的组合、之后施用吡喹酮 (G8) 的组显示小肠长度增加32cm,与正常对照组相似 (图2),且溃疡面积减少7.2%,也与正常对照组相似 (图3)。

[0407] 实施例5:组合式施用长效GLP-1衍生物缀合物与长效GLP-2衍生物缀合物后对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型中结肠长度增加和疾病活动指数 (DAI) 降低的证实

[0408] 为了测量组合式施用长效GLP-1衍生物缀合物与长效GLP-2衍生物缀合物后结肠

长度增加和疾病活动指数 (DAI) 改善的体内功效,使用葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型。具体地,将7周龄的雄性小鼠 (C57BL/6) 按如下方式分成每组10只小鼠的组。DSS的施用方式是将2% DSS混合到饮用水中,其中1个周期由5天含DSS水,之后5天常规水组成。在总共3个周期之后,施用药物,并将第一个周期中施用含DSS水的第一天指定为第0天。

[0409] -G1:正常对照组(无药物组,媒介)

[0410] -G2:DSS对照组(2% DSS,3个周期)

[0411] -G3:DSS施用后施用长效GLP-1衍生物缀合物(0.301mg/kg/Q2D)的组(2% DSS,3个周期;长效GLP-1衍生物缀合物0.301mg/kg/Q2D,2周)

[0412] -G4:DSS施用后施用长效GLP-2衍生物缀合物(1.757mg/kg/Q2D)的组(2% DSS,3个周期;长效GLP-2衍生物缀合物1.757mg/kg/Q2D,2周)

[0413] -G5:DSS施用后施用长效GLP-1衍生物缀合物(0.301mg/kg/Q2D)和长效GLP-2衍生物缀合物(1.757mg/kg/Q2D)的组(2% DSS,3个周期;长效GLP-1衍生物缀合物0.301mg/kg/Q2D,长效GLP-2衍生物缀合物1.757mg/kg/Q2D,2周)

[0414] -G6:DSS施用后施用环孢菌素A(20mg/kg/QD,P0)的组(2% DSS,3个周期;环孢菌素A 20mg/kg/QD,2周)

[0415] 在第44天,进行尸检,并测量结肠长度以评估疾病改善情况(图4)。

[0416] 溃疡性结肠炎的疾病活动性指数(DAI)是通过使用等级分数(scale scores)评估粪便一致性和出血状态测量的。大便一致性等级分数如下给出:正常(0分);大便形态可见,但压后软化不同于正常组(1分);大便不圆且易软化不同于正常组(2分);大便未成型且很软(3分);泄泻导致的肛门潮湿伴水样便而非固体便(4分)。出血状态分数如下:无出血(0分);压便后可见血(2分);不压便即可见血(3分);和直肠证实严重出血(4分)。在第21、23、25、28、30、32、35、37、39、42和44天进行测量,并将这些值的总和用于评估疾病改善情况(图5)。

[0417] 与DSS对照组(G2)相比,DSS施用后施用长效GLP-1衍生物缀合物和长效GLP-2衍生物缀合物的组(G5)显示结肠长度增加大约0.8cm(18%),与正常对照组相似(图4),且溃疡性结肠炎的DAI减少10分(图5)。此外,与术前严重临床阶段常用的环孢霉素A(20mg/kg/QD)施用组(G6)相比,DSS施用后长效GLP-1衍生物缀合物和长效GLP-2衍生物缀合物施用组(G5)显示结肠长度增加大约1.4cm(25%),与正常对照组相似(图4),且疾病活动指数减少6分(图5)。

[0418] 基于以上描述,本领域技术人员将理解,本公开可以以不同的具体形式实现而不改变其技术精神或基本特征。因此,应当理解,上述实施方式不是限制性的,而是在所有方面都是说明性的。本公开的范围由所附权利要求而非由它们之前的描述来限定,因此落入权利要求的界限或这种界限的等同物内的所有改变和修改都旨在被权利要求所涵盖。

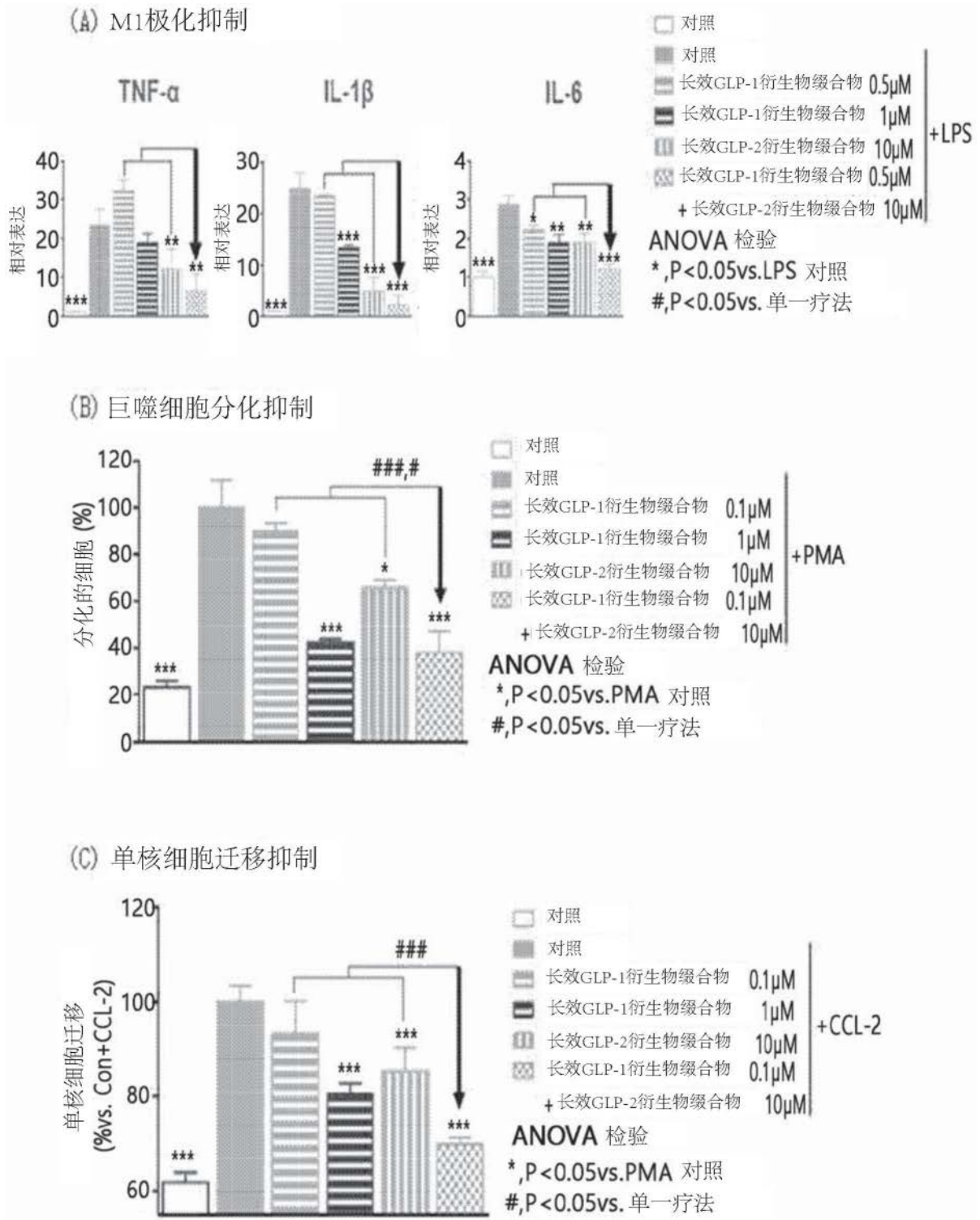


图1

小肠长度

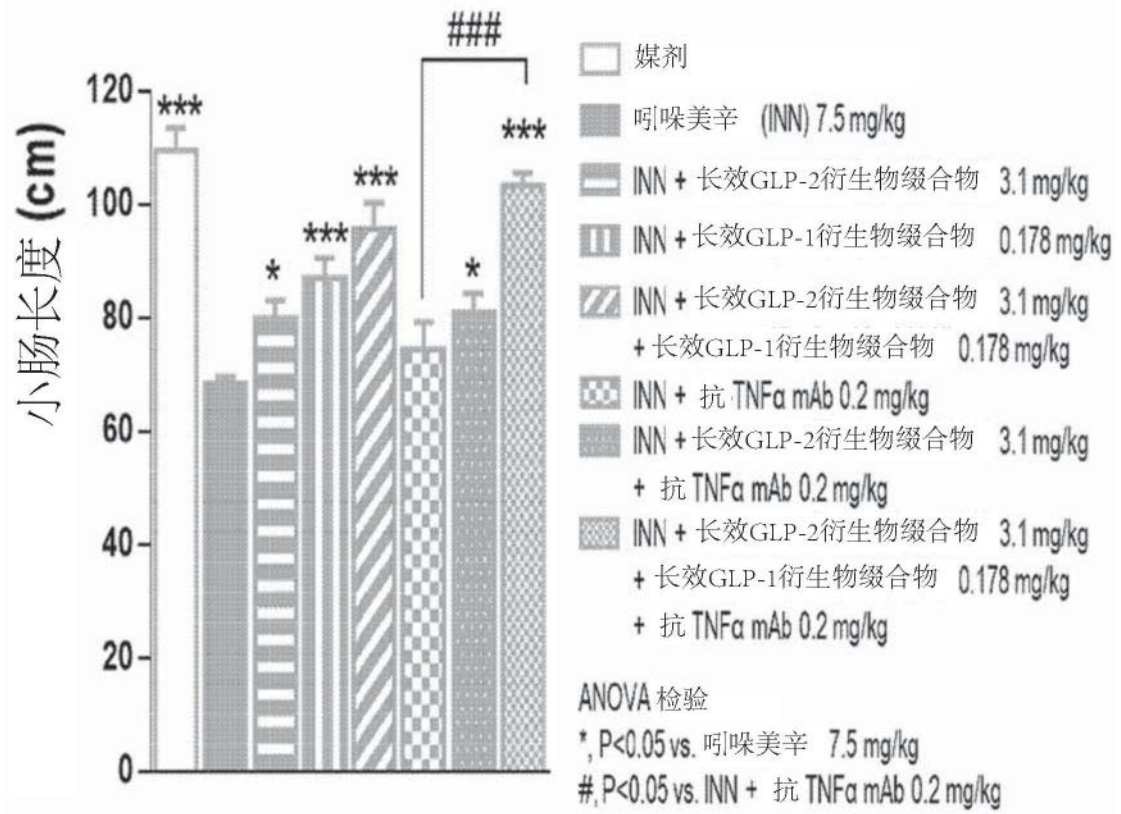


图2

小肠中的溃疡面积

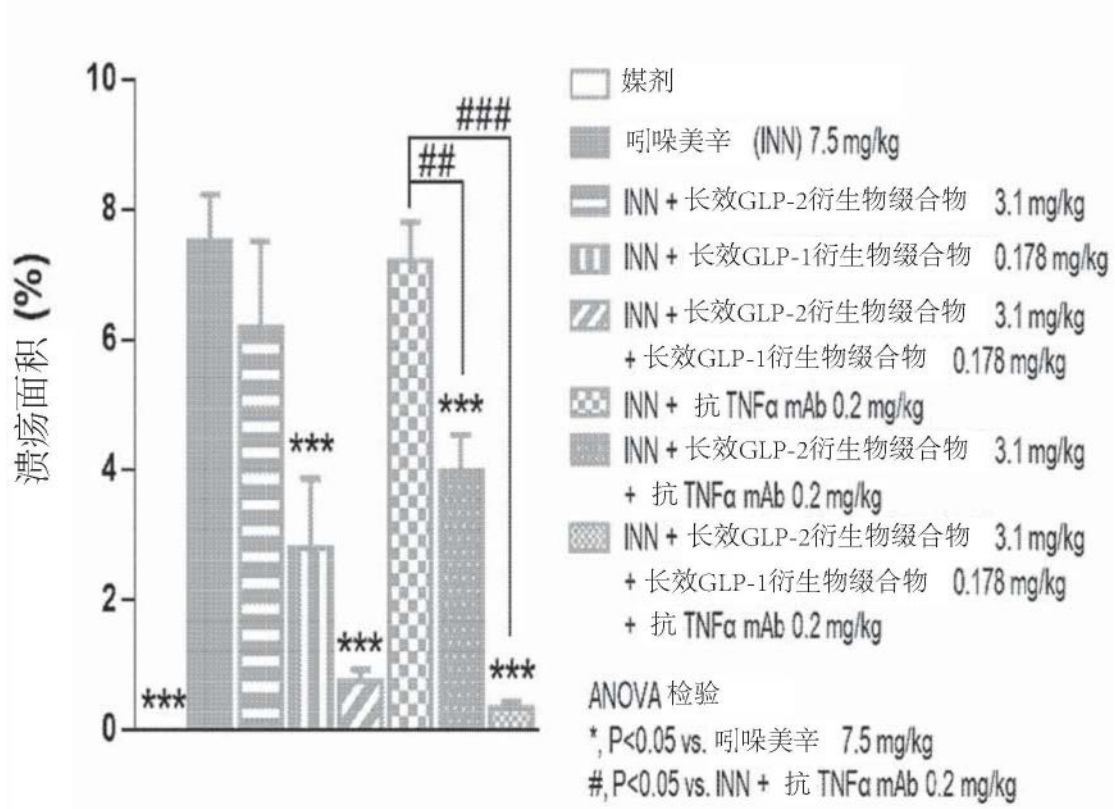


图3

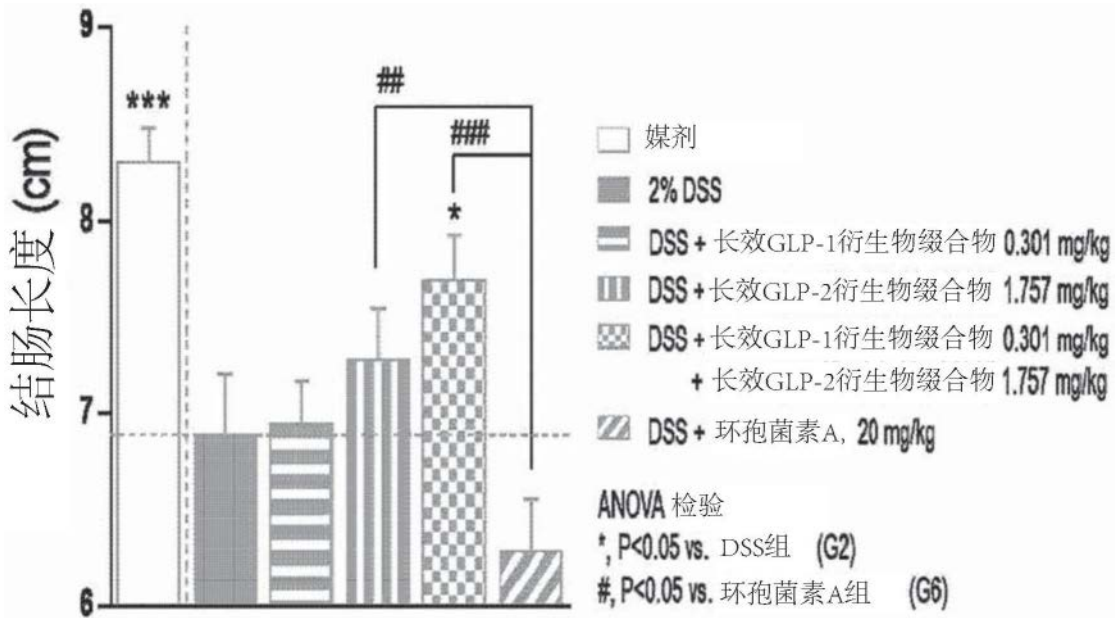


图4

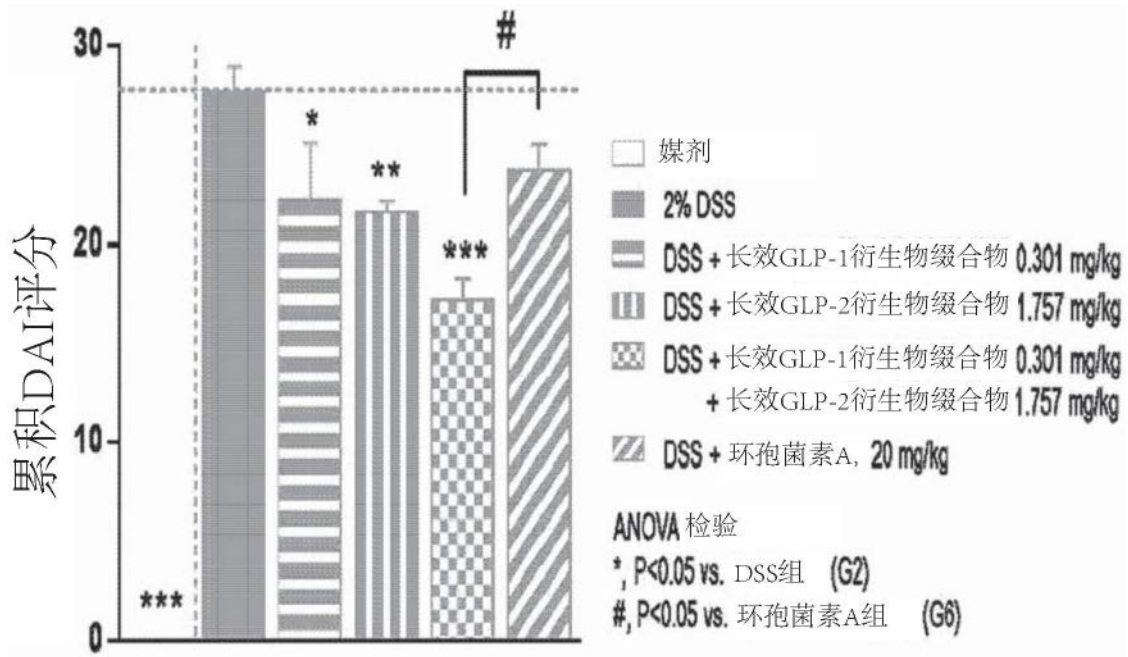


图5